



Universitat Autònoma de Barcelona

**FACULTAT DE CIÈNCIES
SECCIÓ DE CIÈNCIES AMBIENTALS**

PROXIES DE TEMPERATURA I PLUVIOSITAT PER A LA RECONSTRUCCIÓ CLIMÀTICA A LA PENÍNSULA IBÈRICA

Memòria del Projecte Final de Carrera

Llicenciatura de Ciències Ambientals



Autor: Ferran Colomer Ventura

Tutor: Dr. Antoni Rosell Melé

Bellaterra, Juny 2012

AGRAÏMENTS

La realització d'aquest treball no hagués estat possible sense la contribució i els ànims de moltes persones, però en especial voldria donar les gràcies,

Al Dr. Antoni Rosell Melé, tutor del projecte, per concedir-me la oportunitat de realitzar aquest treball i donar-me a conèixer el món de la paleoclimatologia. També per les idees, consells i suggeriments essencials proporcionats en tot moment quan ho he necessitat.

A la Carme Huguet, per tot el temps dedicat a ensenyar-me el funcionament del laboratori i per la gran ajuda en les primeres etapes de desenvolupament del projecte, així com l'alegria i simpatia amb les que em rebia cada divendres a les 9 del matí.

A la Núria Moraleda, per aguantar les infinites consultes de dubtes sobre la metodologia, els ànims en els moments difícils i per estar sempre disponible per ajudar-me.

A tots els companys del laboratori, la Gemma, la Susanne, la Núria V., el Pau, l'Eva, el Xavi, i en general, a tothom que he conegut a l'ICTA, per fer-me sentir com un més de l'equip, pel bon rotllo que transmetien en tot moment i per l'ajuda que m'han facilitat.

A la família i els amics per l'interès mostrat, la voluntat a l'hora d'intentar entendre la temàtica d'aquest projecte i el suport en els moments de "tancar-se a la cova" per tal d'enllestir la feina.

En especial a l'Anna, per animar-me i ajudar-me en tot moment, per estar sempre al meu costat durant tots aquests anys i, en definitiva, fer-me feliç.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ	5
1.1 Antecedents	7
1.2 Objectius	8
1.3 Mètodes indirectes d'anàlisi climàtic	8
1.3.1 Dades històriques	9
1.3.2 Coralls	9
1.3.3 Testimonis de gel	10
1.3.4 Espeleotemes	10
1.3.5 Anells dels arbres i dendrocronologia	10
1.3.6 Sediments oceànics i lacustres	11
1.3.6.1 Fòssils	12
1.3.8.1 Pol·len	12
1.3.8.2 Biomarcadors	13
1.4 Les plantes com a font de biomarcadors	14
1.4.1 Estructura i composició de la cutícula	14
1.4.2 Les ceres cuticulars	15
1.4.3 Degradació de les ceres cuticulars	16
1.4.4 Anàlisi de biomarcadors cuticulars	17
1.4.4.1 Índex de Preferència de Carboni	17
1.4.4.2 Longitud mitjana de cadena	18
1.4.4.3 Composició isotòpica de carboni	19
2. ÀMBIT D'ESTUDI	21
2.1 Ubicació	23
2.2 El clima a la Península Ibèrica	26
2.2.1 Escala temporal i geogràfica	26
2.2.2 Variabilitat climàtica a la Península Ibèrica	26
2.2.3 Biogeografia de la Península Ibèrica	29
3. METODOLOGIA	33
3.1 Introducció	35
3.2 Material i equip de laboratori	37
3.2.1 Material	37
3.2.2 Aparells i equipament de laboratori	38
3.3 Recollida de les mostres	38
3.4 Preparació de les mostres	38
3.5 Extracció de la mostra	39
3.5.1 Extracció de neteja	39
3.5.2 Introducció de la mostra	39
3.5.3 Introducció dels patrons interns	39
3.5.4 Addició del dissolvent d'extracció	40
3.5.5 Introducció al microones	40

3.6 Eliminació del contingut d'aigua de les mostres	40
3.7 Evaporació al rotavapor	41
3.8 Introducció de la mostra concentrada en tubs d'assaig	41
3.9 Fraccionament amb columnes d'aminopropil	42
3.9.1 Introducció	42
3.9.2 Procediment	42
3.10 Anàlisi molecular	43
3.10.1 Introducció	43
3.10.2 Cromatògraf de gasos	43
3.10.3 Espectròmetre de masses	44
3.10.4 Interpretació dels cromatogrames	44
3.11 Quantificació de la matèria orgànica total: <i>Loss on ignition</i>	46
3.11.1 Introducció	46
3.11.2 Procediment	46
4. RESULTATS	49
4.1 Quantificació i concentració	51
4.2 Índex de preferència de carboni	57
4.3 Longitud mitjana de cadena	58
4.4 Relació C_{31}/C_{27}	59
4.5 Altres compostos detectats	59
4.6 Determinació de la matèria orgànica total	60
5. DISCUSSIÓ	61
5.1 Origen dels lípids alquilats	63
5.2 Lípids alquilats com a proxies climàtics	64
5.3 <i>Loss on ignition</i>	65
5.4 Altres compostos identificats	66
6. CONCLUSIONS	67
6.1 Conclusions de l'estudi	69
6.2 Valoració dels objectius	69
6.3 Valoració del projecte	70
6.4 Propostes de millora	71
7. BIBLIOGRAFIA	73
8. PRESSUPOST	81
9. PROGRAMACIÓ	85
10. ACRÒNIMS	89
ANNEX	93

ÍNDEX DE TAULES I FIGURES

Figura 1.1: Estructura de la cutícula	15
Figura 1.2: Estructures dels lípids alquilats	16
Figura 2.1: Ubicació dels punts de mostreig	24
Figura 2.2: Morfologia d'alguns punts de mostreig	24
Figura 2.3: Variabilitat d'alguns elements i factors climàtics a la península ibèrica	27
Figura 2.4: Classificació climàtica de Köppen-Geiger a Espanya, Portugal i Illes Balears..	28
Figura 2.5: Regions biogeogràfiques presents a Espanya	31
Figura 2.6: Zones fitogeogràfiques presents a Espanya	31
Figura 3.1: Esquema de la metodologia analítica	36
Figura 3.2: Exemple de cromatogrames obtinguts	45
Figura 4.1: Concentracions totals de lípids alquilats a les mostres	51
Figura 4.2: Concentracions dels diferents alcans a les mostres	52
Figura 4.3: Concentracions dels diferents alcanols a les mostres	53
Figura 4.4: Concentracions dels diferents àcids alcanòics a les mostres	55
Taula 2.1: Paràmetres geogràfics dels punts de mostreig	23
Taula 2.2: Tipus de vegetació dels punts de mostreig	25
Taula 4.1: Índex de preferència de carboni de les mostres	57
Taula 4.2: Longitud mitjana de cadena de les mostres	58
Taula 4.3: Relació C_{31}/C_{27} de les mostres	59
Taula 4.4: Altres compostos abundants detectats	59
Taula 4.5: Resultats de la determinació de matèria orgànica per ignició (%) (LOI)	60
Taula 8.1: Pressupost aproximat del projecte	83
Taula 9.1: Programació del projecte	87
Taula A1: Característiques dels mètodes d'integració	95
Taula A2: Quantitat de mostra pesada per a l'extracció	97
Taula A3: Concentracions dels alcans a les diferents mostres (ng/g mostra)	98
Taula A4: Concentracions dels alcanols a les diferents mostres (ng/g mostra)	100
Taula A5: Concentracions dels àcids alcanòics a les diferents mostres (ng/g mostra)	102
Taula A6: Quantitats de les mostres en l'etapa de preparació (g)	104
Taula A7: Pesos enregistrats en les diferents etapes de determinació del LOI (g)	105
Taula A8: Anàlisi estadístic	107

1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1 Antecedents

La paraula clima prové del grec *Klima*, que significa inclinació, i fa referència a l'angle d'incidència dels raigs solars sobre una regió de la Terra delimitada per dues latituds i per tant, a les condicions meteorològiques dominants que s'hi manifesten. Una definició més estàndard de clima seria el conjunt de condicions que caracteritzen l'atmosfera d'un lloc determinat. Aquestes condicions estan definides pels valors mitjans dels diferents paràmetres climàtics (temperatura, precipitació, humitat, vent, pressió, etc.) i la seva variabilitat (episodis extrems), durant un període de temps definit entorn dels 30 anys segons la Organització Meteorològica Mundial (OMM). Podem considerar el clima a diferents escales geogràfiques i temporals. Parlarem de microclima, clima local o clima global en funció de l'extensió de l'àrea que estem analitzant, i a la vegada, podem recopilar dades amb un abast de desenes, milers o fins i tot milions d'anys.

El desenvolupament industrial i tecnològic de l'espècie humana en els darrers 200 anys ha provocat alteracions importants sobre els règims climàtics al nostre planeta, l'alliberament massiu de diòxid de carboni a l'atmosfera i el consegüent augment de l'efecte hivernacle natural han fet que l'estudi del clima hagi esdevingut una de les principals preocupacions de la societat actual. Els efectes del canvi climàtic seran molt diversos, no tan sols serà visible un augment de la temperatura, sinó que també es veuran afectats altres paràmetres físics relatius al clima com ara els corrents oceànics o la circulació atmosfèrica. D'aquesta manera, mitjançant el coneixement i la comprensió dels cicles climatològics passats podrem predir amb una fiabilitat més elevada les característiques dels règims climàtics futurs, la responsabilitat de l'ésser humà en la naturalesa d'aquests, les conseqüències que tindran sobre els ecosistemes i les espècies que hi habiten i els impactes socials, econòmics i polítics sobre la població humana del planeta.

Quan parlem de clima ens referim principalment a dos factors: precipitació i temperatura. Una de les maneres de predir com es poden veure influenciats aquests dos paràmetres pel context global de canvi climàtic és mitjançant l'estudi de les variacions climàtiques al llarg de la història de la Terra.

El nostre planeta conté nombroses evidències de la seva història climàtica en multitud de registres, l'anàlisi d'aquests proporciona la informació necessària per reconstruir el clima del passat i realitzar projeccions sobre el clima del futur. Una d'aquestes evidències són les substàncies lipídiques d'origen vegetal conegudes com a lípids alquilats. Els registres sedimentaris de lípids alquilats proporcionen una senyal del tipus de vegetació que trobem en una zona en el temps i per tant donen informació sobre la precipitació i la temperatura, proporcionant d'aquesta manera, una idea general del clima present en aquella àrea.

1.2 Objectius

Aquest projecte de final de carrera s'ha desenvolupat en el marc del projecte TETRACLIM (Tetraether membrane and alkyl lipids in Iberian lakes as proxies for continental reconstruction) que realitza l'ICTA (Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals). L'objectiu del projecte TETRACLIM és obtenir reconstruccions quantitatives a resolució decadal de climes continentals (temperatura i precipitació) a la Península Ibèrica a partir de registres lacustres de l'Holocè.

La contribució d'aquest projecte de final de carrera ha estat l'assaig de biomarcadors climàtics sobre una col·lecció de mostres de sòls de tot Espanya properes als llacs estudiats al projecte TETRACLIM. S'han estudiat un tipus de biomarcadors coneguts com a lípids alquilats amb la finalitat de:

- Avaluar si els sòls esdevenen una font fiable per a la recerca i quantificació de lípids alquilats.
- Observar si les relacions existents entre lípids alquilats i variables climàtiques es poden aplicar a la Península Ibèrica.
- Determinar si els lípids alquilats són una font fiable per a la reconstrucció de canvis en la temperatura i precipitació a la Península Ibèrica.
- Comprovar la viabilitat dels lípids alquilats com a biomarcadors cuticulars de plantes superiors.
- Observar si el tipus de vegetació que evidencia la senyal dels lípids correspon a la vegetació potencial del punt de mostreig.

Posteriorment es compararan les dades obtingudes dels sòls amb els resultats derivats de l'anàlisi dels sediments lacustres del projecte TETRACLIM i s'observarà si existeix una correspondència entre el senyal climàtic proporcionat pels sòls i el proporcionat pels llacs.

1.3 Mètodes indirectes d'anàlisi climàtic

Per tal d'entendre la variabilitat climàtica és necessari disposar de registres històrics instrumentals dels diferents paràmetres del clima. Aquests, malauradament són relativament recents en el temps i tan sols abasten els últims 250 anys. Això fa que sigui necessari recórrer a d'altres mètodes d'obtenció de dades climàtiques amb una escala temporal més extensa. És en aquest context on apareix la paleoclimatologia, ciència que estudia el clima del passat a través d'indicadors geològics naturals que revelen com han evolucionat la temperatura i d'altres paràmetres climàtics en les diferents etapes de la història de la Terra. Mitjançant mètodes indirectes o proxies es pot extreure la informació continguda en els diferents registres naturals i reconstruir de forma quantitativa paràmetres ambientals passats.

La utilització d'un proxy com a font de reconstrucció climàtica s'ha de realitzar amb precaució, ja que les dades obtingudes mai correspondran a una veritat absoluta i per tant serà

recomanable recórrer a l'anàlisi multiproxy per tal de corroborar els resultats obtinguts i obtenir una major fiabilitat.

Es pot obtenir informació climàtica mitjançant l'anàlisi dels fòssils, minerals, isòtops estables, bombolles d'aire o de compostos moleculars específics d'alguns organismes que han quedat emmagatzemats en diferents tipus de registres geològics. Alguns dels principals proxies climàtics més emprats en paleoclimatologia són fruit de l'estudi de registres com ara:

1.3.1 Dades històriques:

Existeix una especialitat dins la paleoclimatologia que utilitza la informació continguda en fonts documentals històriques per tal de conèixer el clima del passat, es tracta de la Climatologia Històrica. L'origen d'aquest tipus de documentació es pot trobar en llibres d'actes de fets memorables, documentació de comunitats religioses, memòries o diaris de persones de ciutat o responsables d'explotacions agrícoles, etc. Tot i així la principal limitació que presenta aquest tipus d'informació és si ha estat generada de forma directa o indirecta, ja que en el primer cas contenen la informació climàtica de forma íntegra i amb la garantia per a la climatologia històrica de que el seu contingut no s'ha alterat posteriorment, mentre que en el segon cas la informació pot haver estat alterada o omesa (Barriendos Vallvé, n.d.). Alguns dels primers registres de dades meteorològiques qualitatives estan datades al segle XIV a Anglaterra o al segle XVI a Suïssa.

La climatologia històrica ha trobat evidències documentals de l'existència de dos cicles climàtics rellevants del passat més recent i corroborats posteriorment mitjançant estudis científics. Es tracta del Òptim Climàtic Medieval (700 dC – 1300 dC) i la Petita Edat de Gel (1350 dC – 1850 dC), amb dos episodis de fred molt importants a principis dels segles XIV i XIX.

1.3.2 Coralls:

Els coralls proporcionen un registre inalterat de les condicions químiques i físiques que existien en l'aigua del mar que els envolta en el moment de la formació del seu esquelet de carbonat de calci (CaCO_3). La informació que aporten es limita a la relativa a l'hàbitat que ocupen, és a dir, els primers 50 – 75 metres de la superfície oceànica, tot i així existeix un interès creixent en estudiar els coralls de profunditats més significatives (fins als 10.000 metres). El creixement coralí es visible mitjançant la formació d'anells als seus esquelets. Cada anell de creixement té una banda de major i una de menor densitat, a causa de les diferents taxes d'extensió i calcificació que es produeixen en els mesos càlids i freds de l'any (Knutson, Buddemeier, & Smith, 1972), per tant a escala macroscòpica, observant el gruix de les bandes es podria fer una predicció relativa de la durada i intensitat dels períodes càlids i freds. Tot i així existeixen tècniques que permeten obtenir una informació més detallada, un clar exemple és la composició isotòpica d'oxigen ($\delta^{18}\text{O}$), que permet obtenir mesures de la temperatura superficial de l'aigua del mar (*Sea Surface Temperature*, SST) i la salinitat (Druffel, 1997). També es poden aplicar les relacions Sr/Ca o Mg/Ca per obtenir registres de SST (Beck et al., 1992; Yu et

al., 2005). Una altra relació útil és la M/Ca (on M equival a cations divalents en concentracions traça) per conèixer la concentració d'aquests elements a les aigües marines (Sholkovitz & Shen, 1995).

1.3.3 Testimonis de gel:

Les glaceres polars o de les muntanyes també esdevenen una font de dades paleoclimàtiques important. Poden aportar dades referents a temperatura, precipitació, humitat, força del vent i fluxos d'aerosols d'origen marí, volcànic, terrestre, cosmogènic o antropogènic (Petit et al., 1999; Simoneit, 1984; Simoneit & Mazurek, 1982). La neu que cau anualment sobre les glaceres atrapa gasos atmosfèrics i impureses a mesura que es va transformant en gel, preservant d'aquesta manera una mostra dels constituents físics de la columna d'aire que es troba sobre la superfície del gel (Langway Jr, 1967). Aquesta acumulació es visible mitjançant la formació d'estrats, que es poden interpretar a escala mil·lenària, obtenint informació sobre els cicles climàtics de la història de la terra, o a escala anual, presentant una informació relativa a fenòmens puntuals com per exemple erupcions volcàniques (Langway Jr, Clausen, & Hammer, 1988). Entre les impureses atrapades al gel i podem trobar partícules de pols i pol·len que permeten conèixer l'abundància, el tipus de plantes o la precipitació del moment (Liu, Reese, & Thompson, 2005; Miyake et al., 2006; Simoneit, 1977).

Les molècules d'aigua que formen el gel també fan la seva contribució de cara a l'estudi paleoclimàtic, mitjançant la seva composició isotòpica en oxigen ($\delta^{18}\text{O}$) i hidrogen (δD), podem conèixer la temperatura del vapor d'aigua que les va formar i per tant, la de l'aire ambient que les contenia (Dansgaard, 1964). Per últim, les bombolles d'aire atrapades al gel permeten obtenir informació de la composició gasosa de l'atmosfera a la qual pertanyien, la presència d'elements en concentracions traça o les variacions de temperatura d'aleshores (Etheridge, Pearman, & de Silva, 1988; Lang, Leuenberger, Schwander, & Johnsen, 1999; Severinghaus & Brook, 1999; Severinghaus, Grachev, Luz, & Caillon, 2003).

1.3.4 Espeleotemes:

Es tracta d'estructures geològiques formades per precipitació química de diversos elements minerals, clars exemples en són les típiques estalagmites i estalactites de les coves. La seva potencialitat com a indicadors paleoclimàtics és immensa, ja que poden proporcionar informació sobre les temperatures anuals mitjanes, la precipitació, el tipus vegetació o la circulació atmosfèrica a través de l'estudi dels seus isòtops estables, les variacions de les taxes de creixement, variacions en les concentracions d'elements traça o la naturalesa del pol·len atrapat en elles (McDermott, 2004).

1.3.5 Anells dels arbres i dendrocronologia:

Al llarg del seu cicle vital, els arbres, formen anells de creixement anuals que esdevenen un registre de les condicions climàtiques en les quals ha crescut. Aquest cicle es pot prolongar de centenars fins a milers d'anys, d'aquesta manera, l'estudi i combinació dels

patrons d'anells d'arbres de diferents períodes ha permès elaborar reconstruccions climàtiques de fins a 10.000 anys enrere. De forma general, en una època humida i de condicions favorables l'individu augmentarà el seu creixement i aquest fet quedarà recollit en un anell més ample, mentre que en una estació seca o de condicions desfavorables el creixement es limitarà i l'anell resultant serà més estret. L'estudi dels anells dels arbres permet obtenir informació sobre la precipitació i la temperatura a través de l'amplada i la densitat dels anells, però també es pot conèixer la composició del diòxid de carboni atmosfèric mitjançant l'anàlisi isotòpic del carboni ($\delta^{13}\text{C}$) present a la fusta i capturat durant la fotosíntesi (Leavitt & Long, 1991; Saurer, Siegenthaler, & Schweingruber, 1995).

1.3.6 Sediments oceànics i lacustres:

Grans quantitats de llims, sorres, matèria orgànica i altres tipus de sediments s'acumulen des de temps immemorials en el fons de llacs i oceans. Aquests materials contenen nombrosos organismes fòssils, restes d'organismes o molècules que poden ser útils per a interpretar el clima del passat. Un aspecte que atorga especial importància als sediments com a font de proxies paleoclimàtics és la presència de matèria orgànica, ja que aquesta proporciona un indicador directe de les condicions ambientals que hi havia en el moment de la seva deposició (Castañeda & Schouten, 2011). Als sediments la matèria orgànica prové principalment, en ordre decreixent d'abundància, de: fitoplàncton, plantes superiors, bacteris i zooplàncton (Killops & Killops, 1993). A nivell bioquímic és una barreja complexa de carbohidrats, lípids, proteïnes i d'altres productes resultants de la degradació i descomposició de la biomassa d'aquests organismes.

Els llacs són més petits que les conques oceàniques i proporcionalment reben més detritus terrígens i nutrients, això fa que tinguin un grau de producció primària i sedimentació de matèria orgànica major que els oceans. Les taxes de sedimentació als llacs poden estar al voltant d'un metre cada mil anys, mentre que en els oceans oscil·la entre un i deu centímetres cada mil anys, d'aquesta manera, la matèria orgànica s'enterra més ràpidament i es conserva millor (Peters, Walters, & Moldowan, 1993).

Així doncs, l'existència de fenòmens de curta durada que puguin modificar l'aportació i sedimentació de la matèria orgànica quedarà recollida de forma més clara en els sediments dels llacs, i s'obtindrà una informació estratigràfica amplificada i de major resolució. Un clar exemple d'aquesta tendència és el transport de nutrients des de la conca dels voltants fins al llac, aquest augmenta o disminueix en funció de la precipitació a escala local, fent així que l'acumulació de matèria orgànica als sediments esdevingui un paleoindicador de precipitació molt útil (Meyers, 1997). A més, els sediments lacustres contenen evidències dels cicles paleoclimàtics i paleoambientals que hi ha als continents, ja que registren a escala local i regional les respostes d'aquests davant les variacions climàtiques globals (Meyers, 2003).

Les aportacions de matèria orgànica als sediments lacustres poden tenir el seu origen en: les plantes que viuen al voltant del llac, microbis que viuen als sòls i als sediments o varis tipus d'algues i microorganismes que viuen a l'aigua. A part d'aquestes fonts locals de

producció de matèria orgànica, existeixen altres mitjans pels quals aquesta aportació es pot veure incrementada. El vent pot transportar pol·len, cendres i partícules de pols de llocs llunyans que quedaran atrapades als sediments i que poden ser utilitzats com a proxies per conèixer la circulació atmosfèrica (Simoneit, 1977; Simoneit & Mazurek, 1982). Tot i aquestes aportacions externes, és la matèria orgànica de les plantes que han viscut a les aigües i als voltants del llac la que constitueix la principal aportació de detritus als sediments lacustres (Meyers & Ishiwatari, 1993). Aquestes plantes es poden classificar en dos grups segons la seva composició bioquímica (Meyers, 2003):

- Plantes no vasculars que tenen poques o nul·les quantitats de cel·lulosa i lignina, com per exemple el fitoplàncton.
- Plantes vasculars que contenen en major proporció teixits llenyosos i poden ser relativament riques en ceres, com per exemple herbes, arbustos, arbres i macròfits emergents dels llacs.

La contribució relativa de cada un d'aquests dos grups en la generació de matèria orgànica està fortament influenciada per la morfologia lacustre, la topografia de la conca i les abundàncies relatives de les plantes aquàtiques i terrestres. En paleoclimatologia, s'utilitza l'anàlisi de la composició orgànica elemental de la matèria orgànica present als sediments per observar l'existència aquests dos grups de plantes i la predominança d'una respecte l'altra, obtenint d'aquesta manera una idea general de l'aspecte de l'ecosistema en aquell moment i de les condicions climàtiques que hi s'hi donaven.

1.3.6.1 Pol·len:

Com s'ha vist amb anterioritat, el pol·len és un element present en múltiples registres geològics i que degut a la seva naturalesa ofereix principalment informació sobre el tipus de vegetació del qual prové. L'abundància i varietat de les diferents espècies de pol·len són un indicador directe de la vegetació present en un lloc concret i per tant de les condicions climàtiques que hi existeixen. Per tant l'estudi del pol·len permetrà obtenir informació relativa a la temperatura o la humitat.

1.3.6.2 Fòssils:

Les diatomees i els foraminífers són microorganismes amb closca que es poden trobar en ambients aquàtics i marins, tant en el plàncton com en el bentos d'aquests ecosistemes. Les closques dels foraminífers estan formades per carbonat càlcic (CaCO_3), mentre que les de les diatomees per diòxid de silici (SiO_2). Un cop morts les closques s'acumulen en els sediments i, com en el cas dels coralls, l'estudi de la seva composició isotòpica d'oxigen o la utilització de les relacions Sr/Ca o Mg/Ca permetrà conèixer la temperatura aproximada de l'aigua on van créixer. També cal mencionar que l'abundància relativa entre diatomees i foraminífers i l'abundància i varietat d'espècies serà representativa de les condicions ambientals del seu

desenvolupament, a més la presència d'espècies amb requeriments ecològics concrets serà significativa de l'existència de condicions ambientals concretes.

1.3.6.3 Biomarcadors:

Els marcadors biològics o biomarcadors són molècules o compostos bioquímics particulars d'un organisme o element biòtic en concret que transmeten informació de les condicions en les quals es van fabricar (Peters et al., 1993). La seva utilitat com a proxies climàtics depèn principalment de la capacitat de resistència a la degradació que es produeix durant la sedimentació i un cop s'incorporen als sediments (Rosell-Melé & McClymont, 2007). Podem trobar biomarcadors terrestres sintetitzats per les plantes que proporcionen informació sobre la vegetació continental, o d'altres d'origen marí o lacustre sintetitzats pel fitoplàncton que proporcionen informació de la zona fòtica d'aquests medis. Dins dels biomarcadors aquàtics n'existeixen dos que adquireixen especial rellevància degut a la seva especificitat taxonòmica, les alquenones i els glicerol dialquil glicerol tetraèters isoprenoides (GDGT's).

Les alquenones són cetones amb llargues cadenes de carboni sintetitzades per un grup d'algues unicel·lulars anomenades haptòfites (eucariotes). El nombre de dobles enllaços presents en les cadenes de carboni d'aquestes molècules s'ha utilitzat per elaborar l'índex U_{37}^K , un proxy que permet calcular la SST (Brassell, Eglinton, Marlowe, Pflaumann, & Sarinthein, 1986). De forma general una major presència d'alquenones amb tres dobles enllaços respecte a alquenones amb dos dobles enllaços indica que les aigües en les que ha crescut l'alga són fredes, mentre que el cas contrari indicaria un creixement en aigües calentes. Els valors d'aquest índex oscil·len entre 0 i 1 i correspondrien a valors anuals mitjans de SST d'entre 0°C i 26°C.

Els GDGT's isoprenoides són lípids de membrana exclusius dels organismes unicel·lulars del domini Arquea. La seva estructura química consta de dues cadenes isoprenoides unides a dos grups glicerol terminals mitjançant enllaços èter. La utilitat com a biomarcadors dels GDGT's radica en el fet de la formació de ciclopentans a les cadenes isoprenoides a mesura que augmenta la temperatura de l'aigua, un mecanisme que serveix per mantenir l'estabilitat i permeabilitat de la membrana. La majoria d'organismes que produeixen aquestes molècules estan, per tant, adaptats a les altes temperatures (extremòfils), però existeix un subgrup anomenat crenarqueotes amb una distribució mesòfila, presents en aigües fredes i calentes de llacs i oceans. En aquest cas, l'adaptació a una temperatura més baixa de l'aigua es fa mitjançant l'aparició d'un ciclohexà a les cadenes isoprenoides, que contribueix a mantenir la densitat de la membrana lipídica (Eglinton & Eglinton, 2008; Huguet et al., 2006; Huguet, Martrat, Grimalt, Sinninghe Damsté, & Schouten, 2011). En paleoclimatologia s'ha utilitzat aquesta variació en l'estructura química d'aquests lípids de membrana per elaborar diversos proxies. Un d'ells és el TEX_{86} (índex de tetraèters amb 86 àtoms de carboni) que calcula la SST anual mitjana en funció de la proporció dels diferents GDGT's i el seu nombre de ciclopentans (Schouten, Hopmans, Schefub, & Sinninghe Damsté, 2002).

1.4 Les plantes com a font de biomarcadors

L'adaptació de les plantes a la vida terrestre, i per tant a la colonització d'aquest medi, va ser marcada per l'aparició, entre d'altres factors, d'una cutícula cerosa als seus teixits que actuava de barrera contra la pèrdua d'aigua. Una barrera que a la vegada havia de ser eficient, transparent per permetre el pas de la radiació fotosintèticament activa, flexible i alhora auto-reparable (Riederer & Schreiber, 2001). Aquesta cutícula és present en l'epidermis herbàcia de parts de la planta en contacte amb l'atmosfera, com ara fulles, tiges, fruits i els òrgans de les flors, mentre que les parts llenyoses o subterrànies estan cobertes per suberina (Kunst & Samuels, 2003; Pollard, Beisson, Li, & Ohlrogge, 2008). La cutícula juga un paper molt important en la fisiologia i ecologia de la planta ja que serveix de primera zona d'interacció amb el medi i d'altres organismes a tots els nivells tròfics (Müller & Riederer, 2005), actua com a última barrera davant la pèrdua d'aigua i en regula el balanç, minimitza els danys mecànics de les cèl·lules foliars, és la primera defensa contra la penetració de contaminants, insectes o fongs patògens i la primera capa de protecció contra la radiació solar nociva (Dodd & Poveda, 2003; G. Eglinton & Hamilton, 1950).

Les ceres presents a la cutícula estan formades per diversos components químics que poden ser utilitzats com a biomarcadors. Aquestes, per tant, permeten conèixer el tipus de vegetació i la composició dels ecosistemes terrestres, i proporcionen informació sobre el clima continental, ja que aquest és el principal factor que modelitza la composició de les ceres durant la seva biosíntesi.

1.4.1 Estructura i composició de la cutícula:

A nivell morfològic, la cutícula és una fina membrana continua d'un gruix aproximat de 0,1 a 10 micròmetres, esta formada per dues matrius polimèriques de cutina i cutan, polisacàrids i diverses ceres cuticulars (Kirkwood, 1999; Pollard et al., 2008; Riederer & Schreiber, 2001). Tot i l'aparent heterogeneïtat d'aquesta estructura, la cutícula presenta diverses capes clarament diferenciades i amb una composició química específica (Jetter, Schäffer, & Riederer, 2000).

A la Figura 1.1 es pot apreciar l'estructura de la cutícula. La capa més inferior, anomenada capa cuticular o cutícula secundària, sorgeix de la impregnació, amb cutina i ceres (ceres intracuticulars), de les parets de les cèl·lules epidèrmiques més superficials i conté nombroses incrustacions de pectina, cel·lulosa i altres polisacàrids. Per damunt d'aquesta, a un nivell mig, apareix la capa anomenada pròpiament cutícula o cutícula primària, formada principalment per cutina incrustada amb ceres (ceres intracuticulars). La capa més superficial consta tan sols d'una fina pel·lícula de ceres hidrofòbiques (ceres epicuticulars) (Heredia, 2003; Müller & Riederer, 2005; Riederer et al., 2006). En algunes espècies, les ceres de la capa externa, poden cristal·litzar i formen estructures amb una gran varietat de formes i patrons (Barthlott et al., 1998). Amb la formació d'aquestes microestructures el caràcter hidrofòbic de les ceres cuticulars es veu amplificat, d'aquesta manera, l'aigua en contacte amb la fulla

s'acumula en forma de petites gotes i neteja la superfície foliar quan cau per efecte de la gravetat. Aquest fenomen es coneix amb el nom d'efecte Lotus, ja que fou per primera vegada descrit en aquesta planta.

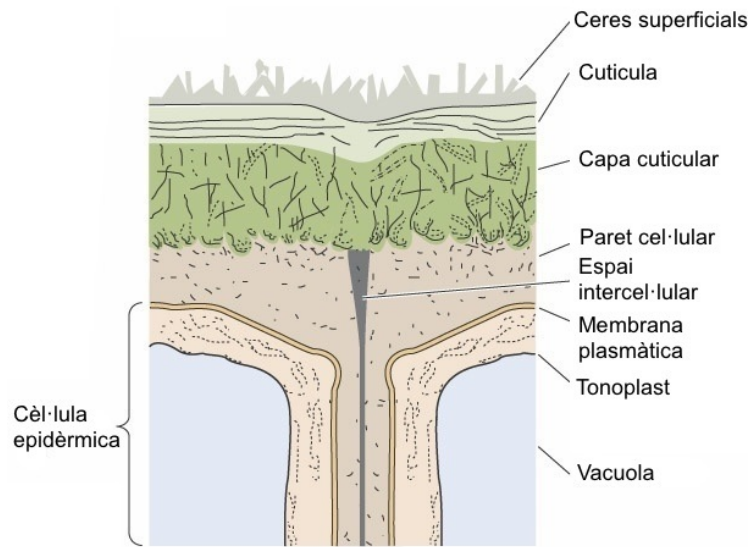


Figura 1.1: Estructura de la cutícula. Font: Adaptada, Plant Physiology Online.

1.4.2 Les ceres cuticulars:

Tal com s'ha descrit, la cutícula es troba impregnada i recoberta de ceres cuticulars. Les ceres són una barreja lipídica formada a les cèl·lules epidèrmiques i que es desplaça a través de la membrana, la paret cel·lular i la cutícula fins arribar a la superfície de la fulla. En el medi terrestre, les plantes estan sotmeses a una àmplia varietat de factors ambientals estressants modelats principalment per les condicions climàtiques del seu entorn, s'ha comprovat que l'abundància i composició química de les ceres cuticulars s'altera degut als efectes de la temperatura, humitat, llum, estrès osmòtic, vent, altitud o pol·lució (Dodd & Afzal-Rafii, 2000; Dodd & Poveda, 2003; Shepherd & Griffiths, 2006). A part dels factor exògens descrits, també s'ha observat que factors endògens com l'edat de la fulla condicionen la naturalesa de les ceres, amb major presència de ceres en òrgans o fulles joves en desenvolupament respecte a les parts velles més properes a la senescència (Kirkwood, 1999; Kolattukduy, 1985).

Químicament, les ceres estan formades principalment pel grup dels lípids alquilats, constituït per hidrocarburs alifàtics de cadena llarga anomenats alcans (n-alcans), alcanols (n-alcanols, hidrocarburs amb un grup funcional alcohol), àcids alcanòics (n-alcanoic àcids, hidrocarburs amb un grup funcional carboxil) i èsters cerosos (èsters d'àcids grassos i alcohols) (Figura 1.2). També hi podem trobar d'altres components en menor proporció (aldehids, diols, terpens, flavonoides, hidrocarburs aromàtics, etc.) (Diefendorf, Freeman, Wing, & Graham, 2011; G. Eglinton & Hamilton, 1950; Kolattukduy, 1966, 1970).

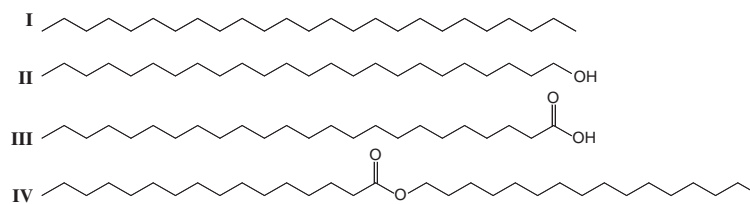


Figura 1.2: Estructures dels lípids alquilats, I: n-alcans ($n\text{-C}_{25}$), II: n-alkanols ($n\text{-C}_{24}$), III: n-alcanoic àcids ($n\text{-C}_{24}$) i IV: èsters cerosos. Font: (Diefendorf et al., 2011).

Les cadenes dels lípids alquilats estan constituïdes per un nombre variable de carbonis en funció del tipus de lípid (alcans, alcanols o àcids alcanoics) i el tipus de planta al qual pertanyi.

En el cas dels alcans, les cadenes solen tenir un nombre imparell de carbonis i una longitud, d'entre 23 i 35 carbonis ($n\text{-C}_{23}$ i $n\text{-C}_{35}$). S'ha observat una predominança per longituds de 31 carbonis ($n\text{-C}_{31}$) en vegetació herbàcia, $n\text{-C}_{29}$ o $n\text{-C}_{27}$ per vegetació arbustiva o forestal, $n\text{-C}_{25}$, $n\text{-C}_{23}$ o $n\text{-C}_{21}$ per macròfits flotants o emergents i $n\text{-C}_{17}$ per algues.

Pel que fa a alcanols i àcids alcanoics, s'observa una predominança de cadenes amb un nombre parell de carbonis. Els alcanols de plantes superiors tenen una longitud de cadena d'entre 22 i 30 carbonis, amb preferència per $n\text{-C}_{26}$, $n\text{-C}_{28}$ i $n\text{-C}_{30}$ per plantes terrestres, $n\text{-C}_{24}$ per macròfits submergits o flotants i entre $n\text{-C}_{22}$ i $n\text{-C}_{16}$ en el cas de les algues. En els àcids alcanoics, les longituds solen estar al voltant de $n\text{-C}_{30}$ i $n\text{-C}_{24}$ per plantes terrestres i $n\text{-C}_{16}$, $n\text{-C}_{14}$, $n\text{-C}_{12}$ per algues (Diefendorf et al., 2011; Eglinton & Eglinton, 2008; Ficken, Li, Swain, & Eglinton, 2000; Meyers, 2003; Ortiz et al., 2010; Pancost & Boot, 2004; Rosell-Melé & McClymont, 2007; Sachse, Radke, & Gleixner, 2006)

1.4.3 Degradació de les ceres cuticulars:

Els diferents components de les ceres cuticulars i, en general, tota la matèria orgànica que va a parar als sòls i sediments es veu sotmesa a varis processos de degradació. A l'interior del sòl, els lípids poden aparèixer de forma lliure, enllaçats químicament amb materials húmics o físicament absorbits en partícules d'argila. Com hem vist, l'existència de biomarcadors es deu principalment a la capacitat de resistència de les seves estructures a aquests processos degradadors. En els sòls la degradació dels lípids està condicionada principalment per l'activitat microbiana i les característiques fisicoquímiques d'aquests. Essent els sòls àcids, secs i anaeròbics els més idonis per a la conservació de lípids degut a la inhibició de l'activitat microbiana que presenten. Tot i així, s'ha comprovat que els alcans veuen augmentat el seu grau de conservació en sòls lleugerament bàsics (Bull, Van Bergen, Poulton, & Evershed, 1998; Logan, Smiley, & Eglinton, 1995).

La degradació dels diversos hidrocarburs alifàtics s'inicia amb l'oxidació dels alcans a alcanols i finalment amb la formació de l'àcid alcanoic corresponent. Aquests àcids grassos poden ser fàcilment metabolitzats per diferents espècies de bacteris aeròbics donant lloc a la formació d'àcids alcanoics de cadena curta. Malauradament, com que els productes de

degradació dels lípids alifàtics no poden distingir-se específicament dels seus precursors biològics, és difícil determinar-ne l'extensió de la seva degradació, ja que no es pot saber si es tracta d'un compost en la seva forma original o bé fruit de l'acció dels processos de degradació. D'aquesta manera, la degradació només pot ser detectada per l'augment o la disminució de les concentracions de les diferents classes de lípids (Otto & Simpson, 2005).

1.4.4 Anàlisi de biomarcadors cuticulars:

La presència en sòls i sediments de biomarcadors cuticulars com els lípids alquilats proporciona una senyal directe del tipus de vegetació de la qual provenen. Per tant, l'estudi d'aquests esdevé un proxy de vegetació continental de gran utilitat. Com hem vist, la longitud de cadena és un dels aspectes d'aquests biomarcadors al qual podem recórrer per caracteritzar la vegetació. En aquest sentit, s'utilitzen la longitud mitjana de la cadena (*Average Chain Length*, ACL) i l'índex de preferència del carboni (*Carbon Preference Index*, CPI) per interpretar la informació extreta. No només la longitud de cadena ens aporta informació sobre el tipus de plantes superiors, un altre aspecte que també es pot utilitzar és la composició isotòpica d'aquests per conèixer la via fotosintètica utilitzada per la planta.

1.4.4.1 Índex de Preferència de Carboni:

L'índex de Preferència de Carboni o CPI s'utilitza per observar la degradació que han sofert els lípids alquilats degut a processos diagènics. Aquest índex es essencialment una representació numèrica del grau de conservació de longitud de la cadena biològica original dels geolípids. L'índex calcula la preferència de cadenes d'hidrocarburs amb un nombre imparell d'àtoms de carboni respecte a cadenes amb un nombre parell d'àtoms de carboni. Aquesta relació permet establir l'origen dels d'hidrocarburs i diferenciar entre aportacions de plantes o aportacions bacterianes i petrogèniques. La fórmula utilitzada per calcular el CPI en alcans és la següent (Bray & Evans, 1961):

$$CPI = \frac{1}{2} \cdot \left[\frac{(n-C_{25}+n-C_{27}+n-C_{29}+n-C_{31}+n-C_{33})}{(n-C_{26}+n-C_{28}+n-C_{30}+n-C_{32}+n-C_{34})} + \frac{(n-C_{25}+n-C_{27}+n-C_{29}+n-C_{31}+n-C_{33})}{(n-C_{24}+n-C_{26}+n-C_{28}+n-C_{30}+n-C_{32})} \right] \text{ (equació 1.1)}$$

En el cas dels alcans, valors de CPI superiors a 1 indiquen una preferència per cadenes amb un nombre imparell de carbonis. L'aportació d'alcans per part de plantes superiors correspon a valors de CPI superiors a 4, mentre que valors propers a 1 corresponen a un origen petrogènic. Valors entre 1 i 4 es considera que poden ser deguts a producció per part d'algues o per acció de la degradació natural, acció microbiològica o contaminació petrogènica. (Diefendorf et al., 2011; Horikawa, Murayama, Minagawa, Kato, & Sagawa, 2010; Killips & Killips, 1993; Meyers & Ishiwatari, 1993; Simoneit et al., 2004). La utilitat del CPI com a indicador climàtic radica en el fet de que permet atribuir valors baixos de l'índex a ambients calents i humits que afavoreixen la degradació de la matèria orgànica, mentre que valors alts

de l'índex corresponen a climes freds i secs que dificulten la descomposició d'aquesta (Luo, Peng, Lü, Zheng, & Wang, 2012). D'aquesta manera, l'índex es pot utilitzar com a proxy paleoclimàtic de precipitació i temperatura.

L'estudi d'hidrocarburs biòtics com els alcans ha esdevingut més conflictiu d'ençà l'aparició i increment de la contaminació per hidrocarburs d'origen petrogènic a finals de 1800. Tal com s'ha explicat, un dels trets característics dels hidrocarburs petrogènics és l'absència d'una preferència per longituds de cadena amb un nombre imparell de carbonis, ja que tenen un CPI proper a 1. Un altre fet significatiu d'aquest tipus d'hidrocarburs és la presència d'una fracció amb gran diversitat d'estructures moleculars (varis milers de components individuals) anomenada UCM, de les sigles en anglès "*unresolved complex mixture*", ja que no pot ser separada pels mitjans estàndard de cromatografia de gasos (Killops & Killops, 1993; Peters et al., 1993), és una barreja que resisteix els efectes de la degradació bacteriana molt millor que els alcans i per tant roman en el medi quan aquests ja han estat degradats.

1.4.4.2 Longitud mitjana de cadena:

La longitud mitjana de cadena o ACL és una paràmetre que descriu el nombre mig d'àtoms de carboni que contenen les molècules del lípid que estiguem estudiant. En alcans la mitjana es fa amb els carbonis imparells mentre que en alcanols i àcids alcanòics amb els parells. La fórmula general utilitzada en alcans és la següent:

$$ACL = \frac{(25n-C_{25}+27n-C_{27}+29n-C_{29}+31n-C_{31}+33n-C_{33}+35n-C_{35})}{(n-C_{25}+n-C_{27}+n-C_{29}+n-C_{31}+n-C_{33}+n-C_{35})} \quad (\text{equació 1.2})$$

Com hem vist, les plantes tenen alcans imparells de cadena llarga a les seves ceres cuticulars, aquests actuen com a mecanismes de regulació de la humitat (Tulloch, 1967). Tot i que no existeixen estudis específics, una major longitud de cadena dels alcans pot indicar que s'han sintetitzat en climes tropicals o càlids, tot i que també pot suggerir que ho han fet sota condicions d'estrès hídric en resposta a elevades temperatures i sequera, ja que es considera que la planta tendeix a afegir molècules amb una major longitud de cadena evitar la pèrdua d'aigua. Per altra banda, longituds de cadena relativament més curtes podrien ser evidències de climes més freds i humits, en els quals el manteniment del balanç hídric no és tant estricte. Aquestes evidències permeten considerar els biomarcadors cuticulars com proxies de temperatura i precipitació continental (Cranwell, 1973, 1981; Gagosian & Peltzer, 1986; Poynter, 1989).

De manera similar a d'altres paràmetres que avaluen la longitud de cadena dels alcans, com el CPI i l'ACL, la relació C_{31}/C_{27} es pot utilitzar en alcans com a índex que avalua la variabilitat de la longitud de cadena en resposta a les condicions climàtiques. Tal i com s'ha explicat anteriorment les plantes tendeixen a afegir compostos amb major longitud de cadena en condicions de sequedat per tal d'evitar la pèrdua excessiva d'aigua, d'aquesta manera, la

relació pren valors baixos en condicions d'humitat altes (major proporció de C_{27}) i valors alts en ambients més secs (major proporció de C_{31}). Aquesta i d'altres relacions, esdevindrien per tant, un altre mètode d'avaluar l'impacte de la humitat sobre les longituds de cadena i es podrien utilitzar com a proxies de precipitació. (Horikawa et al., 2010; Li, Qianyu, Tian, Wang, & Wang, n.d.)

1.4.4.3 Composició isotòpica de carboni:

La composició isotòpica del carboni ($\delta^{13}C$) dels alcans pot ser utilitzada per identificar la via fotosintètica de les plantes que els van sintetitzar. De forma general, les plantes que utilitzen la via C_3 durant la fotosíntesi tenen menys quantitat de ^{13}C , mentre que les que utilitzen la via C_4 en tenen més. Pel que fa a les plantes CAM, com que poden utilitzar les dues vies per fixar el carboni, presenten valors intermedis. Les plantes C_3 són típiques de climes temperats i intensitats solars moderades; les C_4 de tròpics, regions àrides i medis calorosos, secs i assolellats; i les CAM de regions amb altes temperatures diürnes i nits més fresques. Per tant, l'estudi de la composició isotòpica del carboni dels lípids cuticulars pot ser utilitzada com a proxy per tal d'obtenir una referència aproximada del clima continental (Bi, Sheng, Liu, Li, & Fu, 2005; Brincat, Yamada, Ishiwatari, Uemura, & Naraoka, 2000; Duan & He, 2011; Schefub, Ratmeyer, W. Stuut, Fred Jansen, & Sinninghe Damsté, 2003).

2. ÀMBIT D'ESTUDI

2. ÀMBIT D'ESTUDI

2.1 Ubicació

Les mostres analitzades provenen de sòls de diferents punts d'Espanya. La selecció dels punts de mostreig s'ha fet en base a dos criteris, en primer lloc, la proximitat dels punts de mostreig als llacs considerats àmbit d'estudi pel projecte TETRACLIM, de tal manera que s'obtingui informació de les mateixes conques sedimentàries. En segon lloc, la representativitat de les ubicacions escollides de les diferents condicions climàtiques regionals que es donen al territori espanyol, especialment pel que fa a la pluviositat.

La campanya de recollida de les mostres es va realitzar a l'Octubre de 2011. La següent taula recull algunes característiques geogràfiques de les localitzacions on es va dur a terme la presa de mostres (Taula 2.1) i a la pàgina següent podem observar un mapa on es representen les ubicacions dels punts de mostreig en el territori espanyol (Figura 2.1).

	Longitud	Latitud	Alçada (m.s.n.m)	Precipitació (mm)	T mitjana (°C)
AM	4°37'1.2"O	37°18'57.6"N	398	505	16
CA	2°5'9.6"O	42°15'46.8"N	530	450	13
CAR	6°46'30"O	42°29'34.8"N	500	886	12
CAR-M	6°47'31.2"O	42°29'27.6"N	540	948	12
CAY	2°59'34.8"O	42°46'29.9"N	672	471	11
CER	5°55'33.6"O	40°19'8.4"N	1015	866	12
CER-B	4°14'52.8"O	38°15'0"N	643	771	15
COV	5°2'6"O	43°18'7.2"N	523	1455	12
E	0°31'30"O	42°1'51.6"N	679	494	14
ER	4°59'2.4"O	43°16'12"N	1130	995	10
EST	0°11'52.8"O	41°4'4.8"N	348	415	14
MA	2°52'37.2"O	39°24'35.9"N	692	416	14
MI	4°20'5.9"O	38°56'9.6"N	658	532	14
MO	0°59'45.6"E	42°19'51.6"N	1052	805	9
OL	6°17'2.4"O	37°57'50.4"N	533	776	16
RE	1°8'34.8"O	41°51'0"N	509	405	15
SAL	5°37'40.8"O	40°37'8.4"N	963	593	11
SAN	6°42'50.4"O	42°8'2.4"N	1160	1235	10
SAN-C	6°42'3.6"O	42°7'51.6"N	1053	1255	10
TA	1°58'15.6"O	40°39'10.8"N	1145	716	10
TO	2°3'7.2"O	40°32'45.6"N	1174	1002	11
ZA	5°47'41.9"O	37°2'9.6"N	45	611	18
ZO	4°40'58.8"O	37°29'16.8"N	312	520	17

Taula 2.1: Paràmetres geogràfics dels punts de mostreig. Sistema de referència coordenades GPS: WTS 84. Font: Elaboració pròpia.

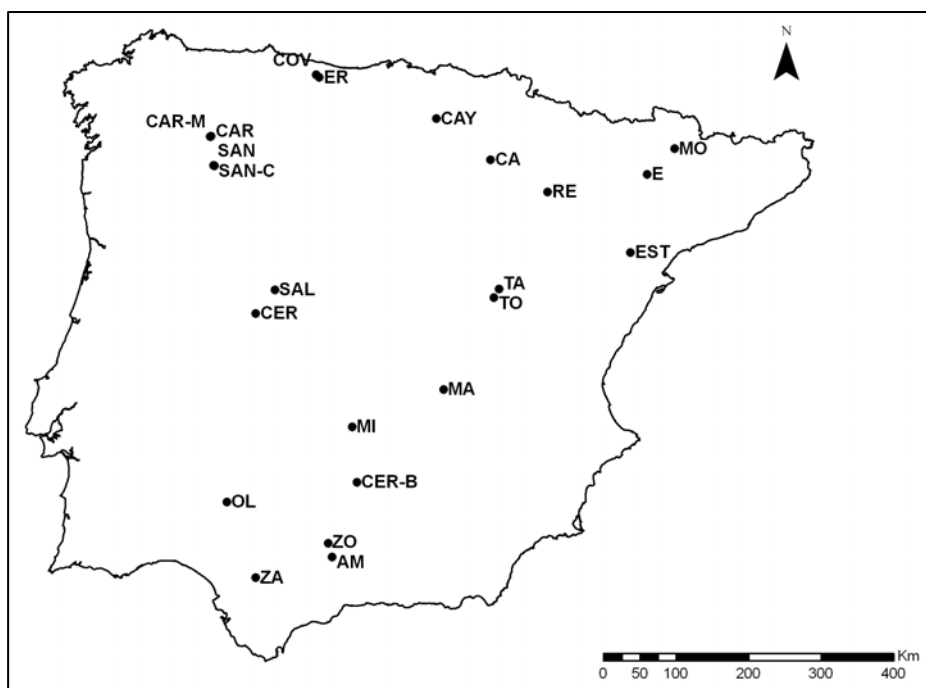


Figura 2.1: Ubicació dels punts de mostreig. Font: elaboració pròpia.

Les fotografies següents són un exemple de l'alta diversitat paisatgística dels punts de mostreig (Figura 2.2), també s'han recollit en una taula el tipus de vegetació i altres observacions de les localitzacions seleccionades (Taula 2.2).

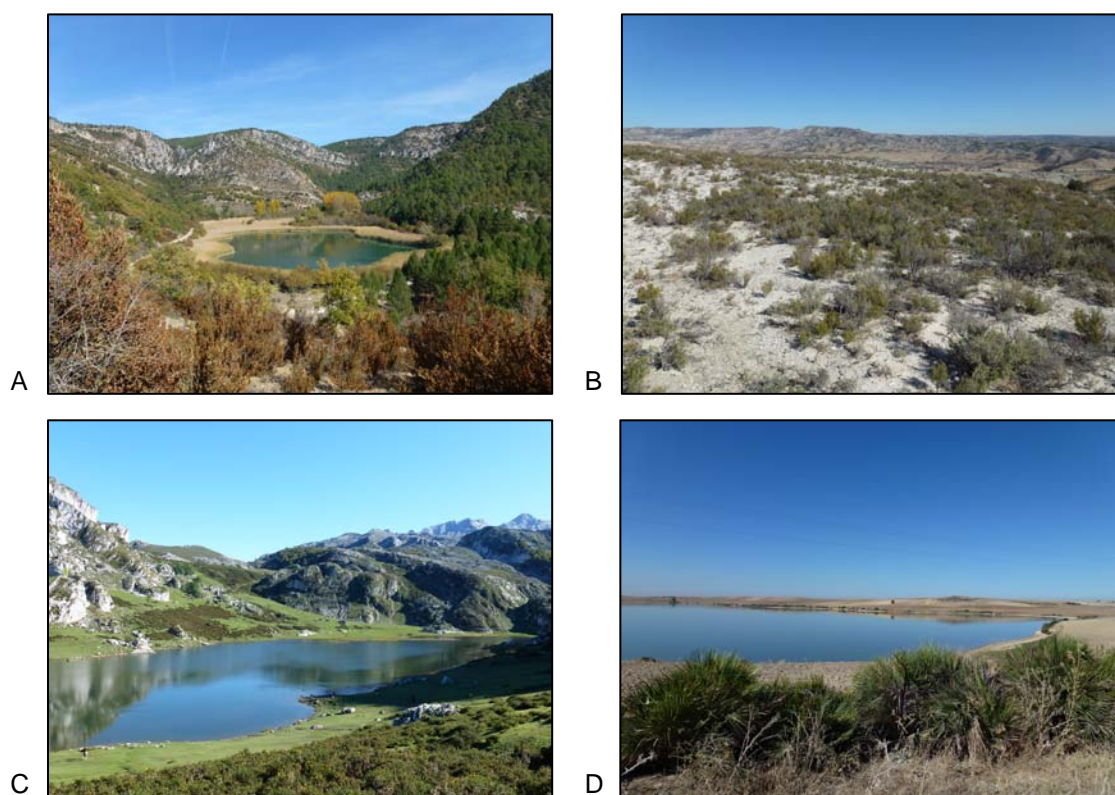


Figura 2.2: Morfologia d'alguns punts de mostreig. **A:** Parc Natural Alto Tajo, prop de la llacuna Taravilla (TA). **B:** Desert dels Monegros (RE). **C:** Pics d'Europa, prop del llac Ercina (ER). **D:** Llacuna Zarracatín (ZA). Font: Elaboració pròpia.

	Província	Tipus vegetació	Observacions zona
AM	Còrdova	Forestal	Llacuna Amarga, reserva natural
CA	La Rioja	Herbaci	Calahorra, terreny erm entre zones agrícoles
CAR	Lleó	Forestal	Llac Carucedo, bosc de salzes vora l'aigua
CAR-M	Lleó	Forestal	Llac Carucedo, alzinar amb dens sotabosc en un pendent de muntanya
CAY	Àlaba	Forestal	Llac Caicedo de Yuso, bosc d'alzines amb poc sotabosc
CER	Salamanca	Forestal	Sierra de Béjar, pineda, zona recreativa
CER-B	Còrdova	Forestal	Parc Natural Sierra Cardeña y Montoro, dehesa
COV	Astúries	Herbaci	Picos de Europa, prat de pastura de vaques
E	Osca	Forestal	Ribagorça, Llacuna d'Estaña, terreny erm agrícola
ER	Astúries	Herbaci	Picos Europa, Llac Ercina, parc natural amb molta pressió turística
EST	Aragó	Forestal	Embassament de la Estanca, pineda, indicis d'antropització
MA	Conca	Herbaci	Llacuna Manjavacas, terreny agrícola
MI	Ciudad Real	Forestal	Llacuna Volcánica de Michos, terreny agrícola
MO	Lleida	Forestal	Estany de Montcortés, roureda
OL	Huelva	Forestal	Sierra de Huelva, sureda
RE	Saragossa	Herbaci-arbustiu	Desert dels Monegros, Remolinos
SAL	Salamanca	Herbaci	Dehesa, ramaderia amb pastura d'ovelles
SAN	Zamora	Forestal	P.N Lago de Sanabria, Llac Sanabria, pendent de la muntanya amb dens sotabosc
SAN-C	Zamora	Forestal	P.N Lago de Sanabria, Llac Sanabria
TA	Guadalajara	Forestal-mixt	P. N Alto Tajo, Llacuna de Taravilla
TO	Conca	Forestal-mixt	Alto Tajo, Llacuna del Tobar, alzinar
ZA	Sevilla	Herbaci	Llacuna Zarracatín, terreny agrícola intensiu de morenc
ZO	Còrdova	Forestal	Llacuna de Zóñar, camp d'oliveres

Taula 2.2: Tipus de vegetació dels punts de mostreig. Font: Elaboració pròpia.

2.2 El clima a la Península Ibèrica

2.2.1 Escala temporal i geogràfica:

Si observem el nostre planeta podem constatar que la configuració climàtica presenta una clara component zonal modelada per la latitud i els grans fluxos de circulació atmosfèrica. Tot i així, per damunt d'aquesta configuració i intervenen factors geogràfics com ara l'alçada, la topografia, els corrents marins i la pròpia distribució de les zones emergides i els mars, que fraccionen aquests grans dominis en unitats més petites analitzables a altres escales més reduïdes. Per altra banda, el clima és un sistema en equilibri dinàmic sotmès a fluctuacions amb una duració molt variable, que poden oscil·lar entre desenes fins a milers o milions d'anys. Per tant, en qualsevol estudi climàtic és important adoptar una escala temporal i geogràfica en funció dels objectius que es vulguin assolir (Cuadrat & Pita, 1997).

A nivell geogràfic es poden diferenciar quatre escales: macroclimàtica, mesoclimàtica, clima local i microclima. En aquest projecte la zona d'estudi és Espanya, per aquest motiu s'ha tingut en compte la informació climàtica a escala mesoclimàtica. Els mesoclimes o climes regionals, són subunitats zonals dels macroclimes i fan referència a aquelles condicions meteorològiques que es solen produir en regions d'entre 200 i 2.000 quilòmetres. En aquestes, la circulació atmosfèrica i el clima en general venen determinats per influències a gran escala i sovint exteriors a la regió.

L'aproximació al coneixement del clima es pot fer també des de diferents escales temporals, principalment són: la paleoclimàtica, la secular i la instantània. Com hem descrit, l'escala paleoclimàtica permet obtenir informació d'èpoques molt més llunyanes als nostres temps mitjançant recursos geològics i paleobiològics, mentre que la secular i la instantània fan referència a fonts directes procedents d'estacions meteorològiques que permeten estudis estadístics suficients per definir les característiques bàsiques del clima. L'escala secular analitza llargues series meteorològiques amb un abast de centenars d'anys, mentre que l'escala instantània examina el present en relació a un període mínim preestablert de 30 anys. En el nostre cas, la informació directe extreta de les mostres pertany a l'escala paleoclimàtica, tot i que s'ha complementat amb altres recursos fruit de l'anàlisi actual del clima i per tant d'escala temporal secular o instantània.

2.2.2 Variabilitat climàtica a la Península Ibèrica:

Geogràficament la Península Ibèrica, de la qual forma part Espanya, pot semblar un petit apèndix d'Euràsia. Tot i així podria considerar-se un mini-continent, ja que en ella hi són presents tots els trets climàtics continentals i si poden identificar gairebé tots els climes del món, fins i tot el subtropical si es tenen en compte les Illes Canàries. Tot i la seva reduïda extensió, l'acció moderadora del mar està atenuada en algunes zones per la complexitat i altitud dels sistemes muntanyosos. Per altra banda, si es té en compte que l'existència de zones àrides és una característica típicament continental, veiem que fins i tot la península

presenta evidències en aquesta direcció, ja que hi podem trobar abundants regions semi-àrides.

Per tal de conèixer el clima de la Península Ibèrica cal saber quins són els elements climàtics més importants que el caracteritzen. Els elements climàtics es poden considerar com aquells factors, propietats i condicions en que podem descompondre el clima per el seu estudi, els més rellevants són la temperatura i la precipitació, però també n'hi ha d'altres més secundaris com la radiació solar, la humitat, el vent o la pressió.

Com hem dit, la temperatura, és un dels dos elements clau del clima i desenvolupa un rol fonamental en la distribució de la vida vegetal i animal sobre el territori. La distribució de la temperatura a la península és molt complexa, però principalment depèn de l'alçada, la latitud i la continentalitat. Les precipitacions són, juntament amb la temperatura, el segon factor que permet dividir la península en regions climàtiques. La distribució de les pluges és molt irregular a causa dels abundants accidents orogràfics que configuren el relleu peninsular i la seva orientació respecte la circulació atmosfèrica. Pel que fa als elements secundaris, la radiació solar manifesta un paper més significatiu sobre el clima, ja que actua com a motor del cicle hidrològic i condiona per tant, la circulació de les grans masses d'aire atmosfèric que determinaran la intensitat i distribució de les precipitacions. La interacció que es produeix entre temperatura, precipitació i radiació solar és la causa de la variabilitat climàtica present a la Península Ibèrica. La figura 2.3 mostra el rang de variabilitat dels elements que condicionen el clima a la península ibèrica així com el relleu d'aquesta.

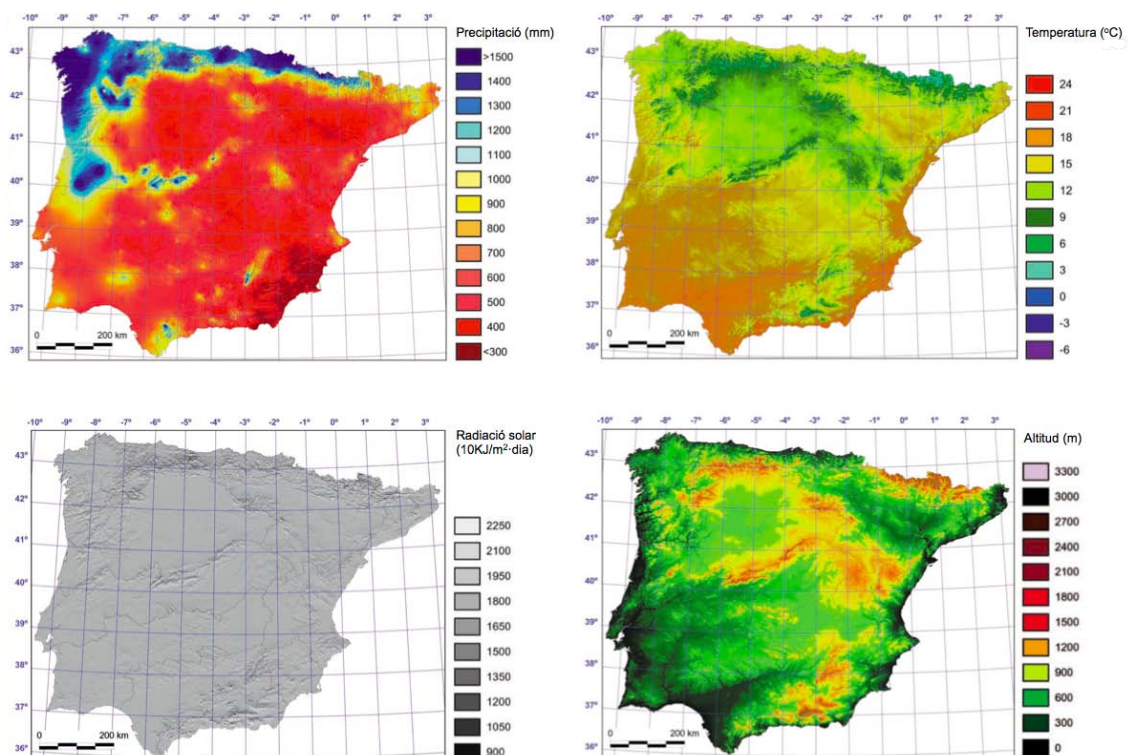


Figura 2.3: Variabilitat d'alguns elements (temperatura mitjana, precipitació anual i radiació solar) i factors (relleu) climàtics a la península ibèrica. Font: Atlas Climàtic Digital de la Península Ibèrica (Ninyerola, Pons, & Roure, 2005).

mitjana superior a 10°C) i "c" si l'estiu és fred (temperatura mitjana del mes més càlid es igual o menor a 22°C i té menys de quatre mesos amb una temperatura mitjana superior a 10°C). D'aquesta manera, observem la varietat Csa, la més representativa de la Península Ibèrica i Balears, que es pot trobar en un 40% del seu territori; el tipus Csb, característic de les àrees muntanyoses de l'interior; el tipus Cfa, al nord-est a alçades mitjanes que envolten els Pirineus i el Sistema Ibèric; i finalment Cfb, típic de la regió cantàbrica, l'altiplà nord i gran part dels Pirineus exceptuant les àrees de major altitud.

En tercer lloc apareixen els climes Tipus D, es tracta de climes freds, en els quals, la temperatura mitjana del mes més fred és inferior a 0°C i la del més càlid superior als 10°C. Els subtipus i varietats d'aquesta classificació són els mateixos que els de la classe C. Trobem climes freds amb estius secs que poden ser temperats (Dsb) o freds (Dsc) i que es donen a les zones d'alta muntanya de la Serralada Cantàbrica, Sistema Ibèric, Sistema Central i Sierra Nevada. I també apareixeran, climes freds sense estació seca amb estius temperats (Dfb) o estius frescs (Dfc) en zones d'alta muntanya dels Pirineus i petites àrees de la Serralada Cantàbrica i el Sistema Ibèric.

Finalment, en quart lloc, trobem els climes Tipus E, climes polars, en els que tots els mesos de l'any presenten temperatures mitjanes per sota els 10°C. Són molt escassos a Espanya i només a apareixen a petites àrees d'alta muntanya als Pirineus Centrals coincidint amb les majors alçades del sistema, s'identifiquen com a subtipus T, referent amb a la tundra, i presenta uns valors mitjans de temperatura del mes més càlid entre 0 i 10°C.

2.2.3 Biogeografia de la Península Ibèrica:

La Península Ibèrica forma part del gran reialme Holàrtic, un regne florístic que inclou totes les zones de clima temperat i àrtic d'Europa, Amèrica del Nord, Àsia i la part més septentrional d'Àfrica. Segons Ozenda (1982), el regne es pot subdividir en onze regions florístiques o biogeogràfiques, tres de les quals són presents a la Península Ibèrica. Aquestes són la regió Eurosiberiana, la regió Mediterrània i la regió Macaronèsica. La regió Eurosiberiana es localitza des de el nord de Portugal, Galícia, la cornisa Cantàbrica fins als Pirineus occidentals i centrals. La regió Mediterrània ocupa la resta de la superfície de la Península incloses les Illes Balears. Finalment, la regió Macaronèsica està formada només per les Illes Canàries (Méndez Gutiérrez del Valle & Molinero Hernando, 1993).

La dependència de la vida vegetal respecte al clima, ja sigui a través de la seva diversitat i límits de distribució de les espècies o en l'estabilitat de les biocenosis, s'ha posat en evidència a partir d'observacions precises i de la definició de diversos índexs numèrics i gràfics que posen al descobert que els principals elements climàtics que influeixen sobre el desenvolupament de la flora i la vegetació són la precipitació i la temperatura. Aquests dos elements configuren un mosaic climàtic molt variat sobre el territori, fent d'Espanya un territori molt ric en espècies vegetals. Com hem vist amb anterioritat, a Espanya i hi trobem dues grans regions biogeogràfiques, l'Eurosiberiana i la Mediterrània, aquestes alhora es poden subdividir en zones fitogeogràfiques en funció de la composició florística, l'estructura de la comunitat i els

condicionaments ecològics. Aquestes són: la zona Eurosiberiana, la zona Submediterrània, la zona Mediterrània, la zona Mediterrània seca i la Mediterrània semi-àrida. Tal com els seus noms indiquen, la primera forma part de la regió biogeogràfica Eurosiberiana, mentre que les altres quatre de la Mediterrània, amb un predomini de xeròfits escleròfil·les adaptats a suportar l'eixutesa estiuenca (Figures 2.5 i 2.6).

La zona de vegetació Eurosiberiana, presenta les espècies típiques de l'àmbit centre-europeu, amb frondosos boscos caducifolis. Les fagedes (*Fagus sylvatica*), rouredes humides atlàntiques de roure pèrol (*Quercus robur*) i de fulla gran (*Quercus petraea*), les pinedes de pi negre (*Pinus mugo* ssp. *uncinata*) d'alta muntanya i les avetoses (*Abies alba* als Pirineus i *Abies pinsapo* al Sistema Bètic), formen l'estrat forestal, que es complementa amb vegetació arbustiva d'alta muntanya i la presència de prats alpins entre els 2.300 i 2.400 metres d'alçada. Cal mencionar que dins d'aquesta zona apareixen signes de la incidència Boreoalpina, amb un paisatge característic d'alta muntanya, que canvia totalment i deixa d'estar dominat pels caducifolis per a passar a estar protagonitzat pels boscos de coníferes. L'Alta muntanya es pot diferenciar en tres estatges de diferents característiques: l'estatge subalpí, l'estatge alpí i els prats nivals. És cert que l'element ecològic decisiu a l'alta muntanya és el fred, però d'altres factors com la radiació solar, les boires, el vent o l'oscil·lació tèrmica també incideixen de manera directa o indirecta en la fisiognomia i característiques de la vegetació de la zona.

La zona de vegetació Submediterrània, té un caràcter clarament de transició, amb mescla de formacions arbòries escleròfil·les i caducifòlies. En són exemples típics les rouredes seques de roure martinenc (*Quercus pubescens*), reboll (*Quercus pirenaica*), de fulla petita (*Quercus faginea*) i africà (*Quercus canariensis*), juntament amb pinedes submediterrànies de pi roig (*Pinus sylvestris*) i pinassa (*Pinus nigra*). Aquesta zona, és el resultat de la penetració de l'element mediterrani a la regió eurosiberiana quan troba les condicions climàtiques adients, de la mateixa manera que ho fa l'element eurosiberià que prolifera quan troba sòls humits o altres estacions favorables.

Pel que fa a la zona de vegetació mediterrània cal mencionar que és la més extensa al llarg de la península. En aquesta zona hi abunden els boscos d'arbres de fulla petita i coriàcia, per la qual cosa es coneixen amb el nom de boscos esclerofil·les, i en són clars exemples arbres com l'alzina (*Quercus ilex* ssp. *ilex*), la carrasca (*Quercus ilex* ssp. *rotundifolia*) o la surera (*Quercus suber*). En general, l'estrat arbori és continu i generador de molta ombra, per bé que no sol assolir molta alçada (5 – 12 metres). El sotabosc està format per un estrat arbustiu i lianoide, així com per un estrat herbaci poc desenvolupat. També hi trobem diverses pinedes, formacions integrades per pins (*Pinus* spp), que, en general, fan poca ombra, per aquest motiu no arriben a originar un microclima netament forestal.

La zona amb vegetació mediterrània seca està constituïda principalment per masses arbustives de màquies (litorals i continentals) i savinars (litorals), algunes espècies típiques són el margalló (*Chamaerops humilis*), el garrofer (*Ceratonia siliqua*), l'ullastre (*Olea europaea* ssp. *sylvestris*), el garric (*Quercus coccifera*) i el llentiscle (*Pistacia lentiscus*). Les màquies i garrigues són formacions denses, altes (1,5 – 2,5 metres) i impenetrables que constitueixen el

clímax allí on el clima o el tipus de sòl no permet l'establiment de formacions boscoses. Finalment, la zona de vegetació mediterrània semi-àrida presenta formacions de màquies i espinars subdesèrtics amb espècies com la bufera (*Withania somnifera*), l'arç de tanques (*Lycium europaeum*), l'espart (*Stipa tenacissima*) o el cornical (*Periploca angustifolia*).

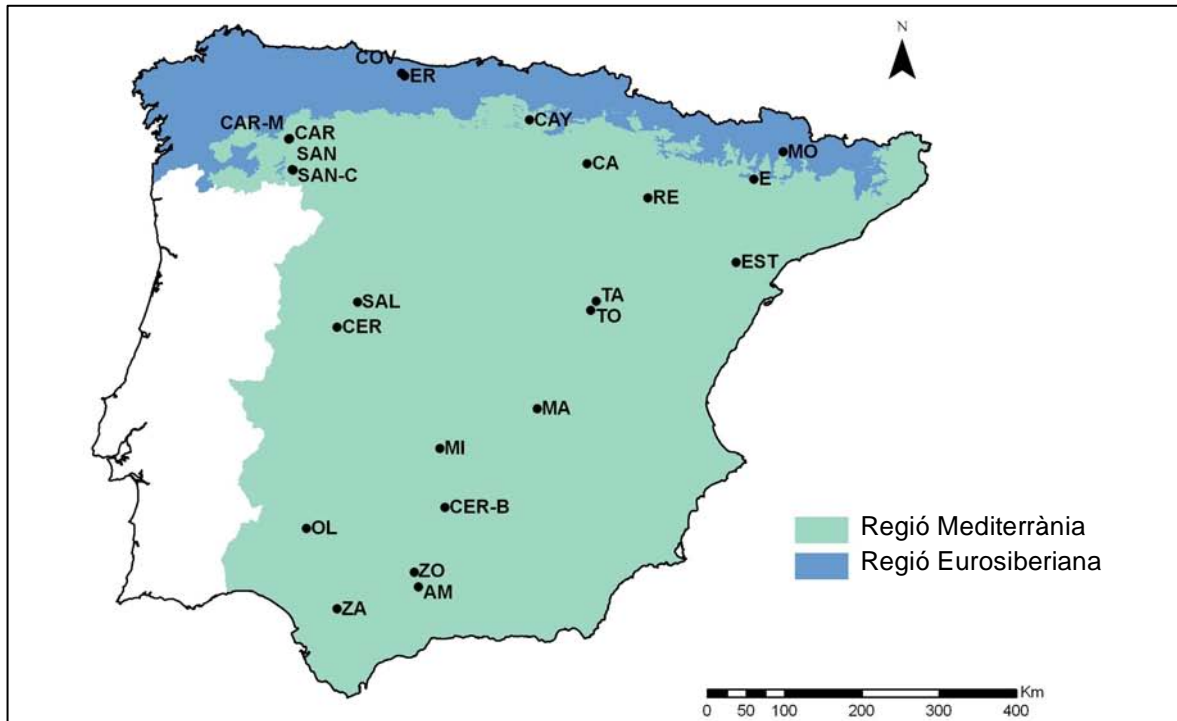


Figura 2.5: Regions biogeogràfiques presents a Espanya. Font: elaboració pròpia.

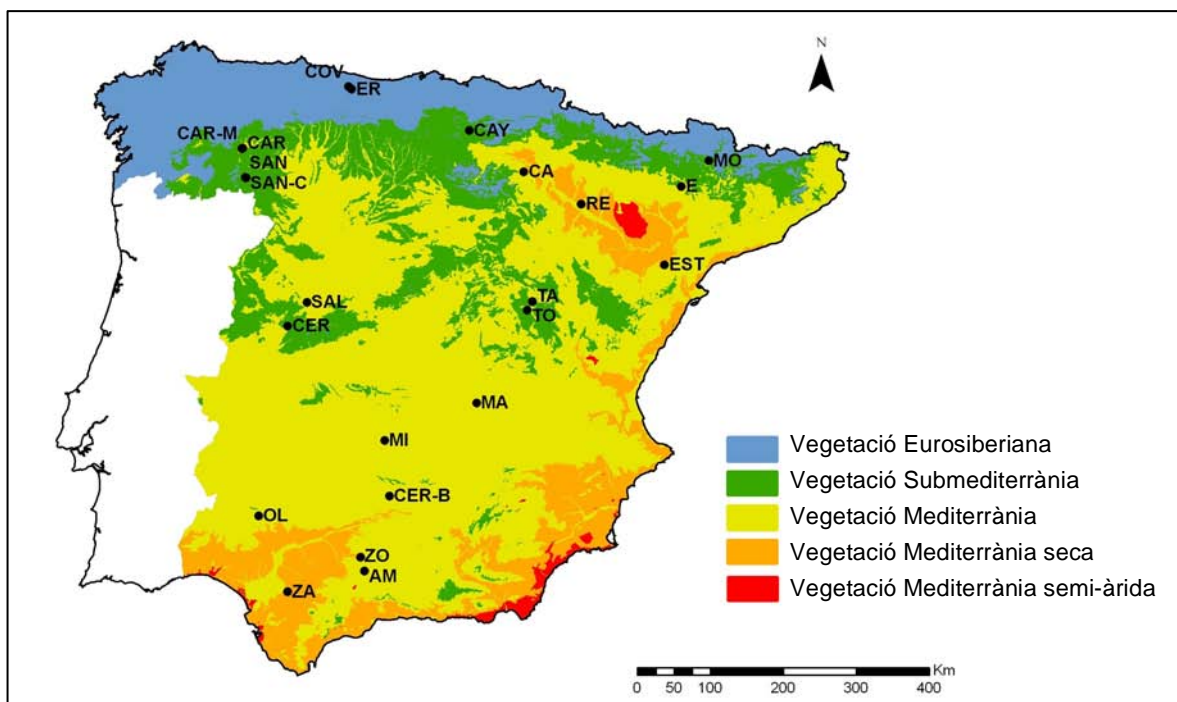


Figura 2.6: Zones fitogeogràfiques presents a Espanya. Font elaboració pròpia, adaptat de Rivas-Martínez (1987).

3. METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

3.1 Introducció

El procés d'anàlisi de lípids alquilats consta de diverses etapes, prèviament a la manipulació estrictament de laboratori s'ha realitzat una preparació que ha consistit en l'eliminació del material groller i la homogeneïtzació de la totalitat de la mostra, per tal de que les petites fraccions destinades a l'anàlisi fossin representatives del conjunt real. A continuació es realitzen els processos d'extracció, purificació i fraccionament per tal de deixar la mostra llesta per a l'anàlisi instrumental amb cromatògraf de gasos i espectròmetre de masses. Finalment es du a terme l'anàlisi i interpretació dels resultats.

Tot el material que intervé al llarg de les diverses etapes procedimentals segueix un estricte protocol de neteja que garanteix l'eliminació de possibles fonts de contaminació que puguin alterar els resultats obtinguts. Per tal d'eliminar qualsevol resta de matèria orgànica, el material de vidre reutilitzable s'introdueix en un cubeta d'àcid nítric (HNO_3) al 1% V/V durant 24 hores, a continuació, s'esbandeix amb aigua destil·lada i es submergeix 24 hores més en una cubeta que conté una solució de detergent al 2%, posteriorment, es torna a esbandir amb aigua destil·lada i es posa a assecar a l'estufa a 105°C. Un cop sec, s'embolica amb paper d'alumini i es mufla a 450°C durant 4 hores. En el cas del material graduat, transcorregudes les 24 hores a la cubeta de detergent, s'esbandeix amb acetona i s'embolica amb paper d'alumini.

El protocol de neteja detallat i seguit durant la manipulació del material al laboratori ha sigut el 1.9 1.6 "Utilització de les cubetes" elaborat pel Laboratori LERA ICTA.

El fet de treballar en un laboratori també implica l'adopció de diverses mesures de seguretat per part de l'analitzador. En aquest cas, la utilització de guants i ulleres de protecció és indispensable, així com la utilització de la campana d'extracció per tal de minimitzar el risc d'inhalació de vapors d'àcids i dissolvents.

Tot i l'atenció que es posa en la neteja del material i en evitar la contaminació de les mostres, sempre existeix un risc d'alteració dels resultats. Per tal de saber si s'ha produït una contaminació de la mostra s'utilitzen blancs, aquests reben el mateix tractament que una mostra normal i serveixen per identificar i quantificar l'alteració que hauran patit les mostres i tenir-la en compte en els resultats.

Durant el procés analític també es poden produir pèrdues dels compostos que ens interessin a causa de la naturalesa de les tècniques (canvis de recipients, utilització pipeta, etc.). Òbviament, també ens interessa quantificar aquesta pèrdua i per aquest motiu s'utilitzen patrons. Són substàncies amb un comportament similar a les que busquem a la mostra i que introduïm en concentracions conegudes amb la finalitat de conèixer quina ha estat la seva pèrdua una vegada finalitzat el procés. D'aquesta manera, podem obtenir una idea de la recuperació que hem obtingut respecte a la quantitat total present a la mostra original.

El següent esquema recull totes les etapes de la metodologia emprada en l'anàlisi de les mostres:

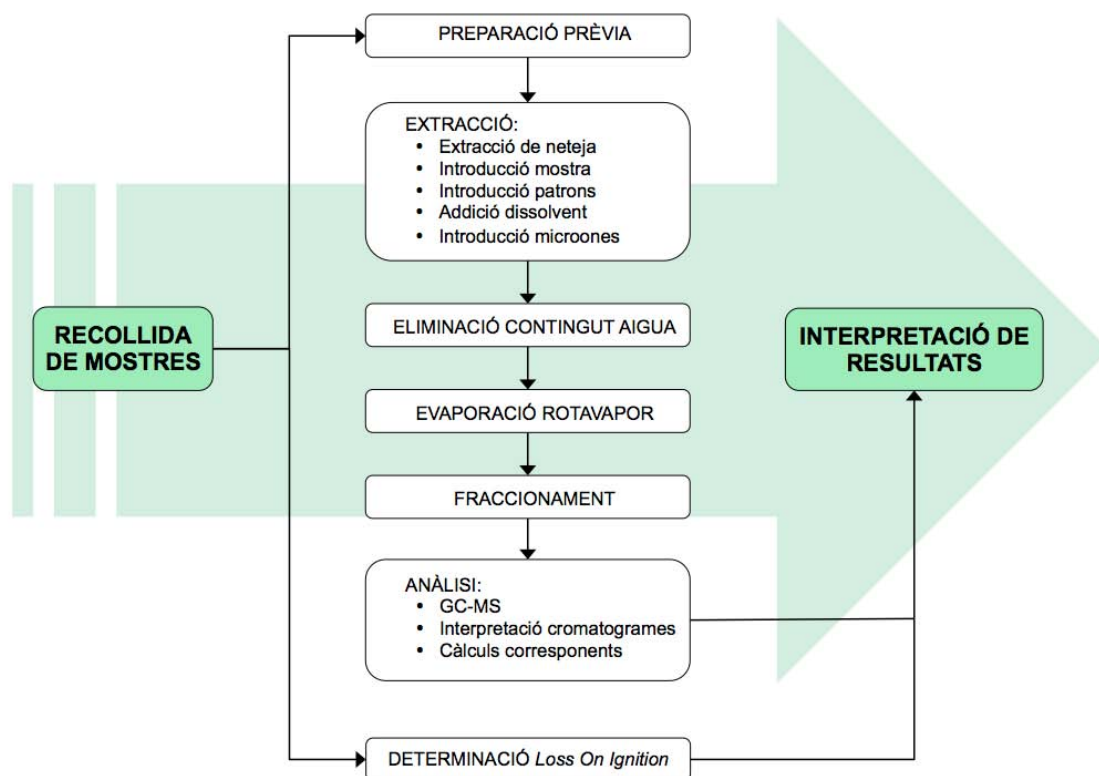


Figura 3.1: Esquema de la metodologia analítica. Font: Elaboració pròpia

3.2 Material i equip de laboratori

3.2.1 Material:

Material de vidre:

- Tubs d'assaig (13x100mm i 16x100mm).
- Embuts.
- Provetes (10mL, 100mL i 250mL).
- Balons (100mL).
- Xeringues de vidre (10 µL, 100 µL i 500 µL).
- Suport columna cromatogràfica (Xeringa, 110mm, Ø15mm)
- Envasos i taps vidre esmerilat.
- Pipetes Pasteur (230mm i 150mm).
- Vas de precipitats (100ml).

Material de plàstic:

- Recipients de tefló microones.
- Gradeta.
- Bosses hermètiques.

Dissolvents i àcids:

- Diclorometà (DCM) CH_2Cl_2 Merck.
- n-hexà C_6H_{14} Merck.
- Metanol CH_4O Merck.
- Acetona $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ Merck.
- Iso-octà C_8H_{18} Merck.
- Cloroform CHCl_3 FLUKA.
- 2-propanol $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ Merck.
- Dietilèter $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$ Sigma-Aldrich.
- Àcid acètic CH_3COOH Sigma-Aldrich.

Adsorbents:

- Aminopropil Sharlab 40-60 µm NH_2 sorbent.
- Sulfat de sodi Na_2SO_4 Merck.

Altres materials:

- Secador.
- Safates d'alumini grans (22x15cm).
- Safates d'alumini petites (Ø 43mm).
- Agitador magnètic.
- Garbell (Ø porus 2mm).
- Taps vials.
- Cotó.
- Rotllo de paper d'alumini 11µm 250m.
- Morter.
- Espàtula.
- Pinces.
- Bol d'alumini.
- Guants.
- Ulleres de protecció.
- Mascareta.

3.2.2 Aparells i equipament de laboratori:

- Cromatògraf de Gasos Agilent Technologies 7890-A System.
- Espectròmetre de Masses Agilent Technologies 5975-C inert MSD with Triple-Axis Detector.
- Campana d'extracció Burdinola OR-ST 1500.
- Balança analítica AND GX-2000-EC.
- Balança de precisió AND GR-200-EC.
- Microones CEM MARS-X.
- Assecador flux de nitrogen.
- Rotavapor (Büchi Rotavapor R-200 i Büchi Heating Bath B-490).
- Centrifuga Hettich Rotofix 32.
- Dessecador.
- Estufa Memmert P-Selecta.
- Mufra Obersal XB-2-115.
- Congelador.
- Nevera.

3.3 Recollida de les mostres

Un cop escollit el sòl que es vol mostrejar s'aparta mitjançant una pala la fullaraca, vegetació superficial o l'humus que formaria l'horitzó orgànic més superficial del sòl. Un cop tenim el sòl descobert hi col·loquem un quadrat de ferro, de vint centímetres de costat, per tal de delimitar l'àrea d'extracció de la mostra. Utilitzarem pala, pic o espàtula per tal de recollir tota la fracció de sòl compresa en aquest quadrat fins a una profunditat aproximada de cinc centímetres. El sòl es diposita en safates d'alumini, s'emboliquen amb paper de plata i es guarden en bosses de plàstic segellades hermèticament. Finalment es realitza l'etiquetatge de la bossa i s'enregistra la posició geogràfica del punt de mostreig mitjançant GPS. De cada zona de mostratge es prenen tres rèpliques de les mostres de sòl.

Precaucions: per tal d'evitar contaminacions de les mostres cal situar el punt de recollida allunyat de focus emissors d'hidrocarburs com ara carreteres i recollir les mostres utilitzant guants.

3.4 Preparació de les mostres

Una vegada al laboratori s'agafen les safates de les tres rèpliques de cada mostra i s'aboca el seu contingut en un bol d'alumini on es realitza una homogeneïtzació mitjançant una espàtula. Es prepara una safata de vidre i es cobreix amb paper d'alumini, posteriorment, la mostra homogeneïtzada es fa passar per un garbell (diàmetre del porus 2mm) de tal manera que la terra fina resultant quedi recollida al paper d'alumini de la safata. De la fracció d'elements grollers que queda al garbell se'n tritura amb un morter els agregats de sorra visibles i s'utilitzen pinces per separar-ne les arrels i restes vegetals per una banda i les pedres per l'altra, per tal de pesar-les posteriorment.

Finalment, s'aboca la terra fina recollida en una safata d'alumini (tarada prèviament) i es pesa a la balança analítica, idealment es recomana recollir com a mínim un quilogram de terra fina de la mostra, sempre que les mides de la safata o la densitat de la mostra ho permetin. S'anota el pes net de la mostra, es tapa amb paper de plata la safata i s'identifica amb el codi corresponent. Les quantitats resultants del procés d'homogeneïtzació, així com les fraccions de pedra i restes vegetals queden recollides a la taula A6.

Precaucions: utilitzar la campana mòbil de succió d'aire per tal de no contaminar la mostra i recollir la pols generada durant el procés. Tot el material s'ha de netejar primer amb aigua i després amb acetona entre mostra i mostra. Un cop net s'eixuga amb l'assegador.

3.5 Extracció de la mostra

Per tal de conèixer el contingut en lípids alquilats de les mostres es realitza un procediment d'extracció al microones. Aquest mètode transferirà de la mostra al solvent utilitzat els compostos químics que volem estudiar.

3.5.1 Extracció de neteja:

Prèviament a la introducció de les mostres al microones cal realitzar una extracció de neteja. Aquest pas serveix per eliminar les restes orgàniques d'altres substàncies que hagin pogut quedar adherides als recipients i que podrien alterar els resultats de les mostres. Per fer l'extracció de neteja es dipositen 50mL de diclorometà:metanol (3:1) i un agitador magnètic a cada recipient, aquests s'introdueixen al microones i s'aplica el programa "BIOMARKERS". Un cop finalitzada l'extracció s'aboca el dissolvent, es recuperen els agitadors i els recipients queden llestos per a la seva utilització.

3.5.2 Introducció de la mostra:

S'agafa una mostra, es pesen 10 grams i s'introdueixen a l'interior del recipient juntament amb un agitador magnètic. A cada tongada d'extracció amb el microones es realitza un blanc sense mostra. L'objectiu del blanc és detectar la presència i intensitat d'algun tipus de contaminació que es produeixi durant el procés analític de les mostres. Les quantitats pesades de cada mostra queden recollides a la Taula A2 de l'annex.

3.5.3 Introducció dels patrons interns:

Els patrons o estàndards interns són substàncies que s'introdueixen a les mostres al principi del procés analític. La seva finalitat és fer visible la pèrdua de compostos del nostre interès que pot ocórrer durant la realització de les diferents fases de treball al laboratori. Com que tenen una concentració coneguda permeten observar i quantificar aquestes pèrdues i alhora calcular la magnitud de la recuperació de l'extracte realitzat en relació a la quantitat real present a la mostra.

Amb la mostra present en el recipient es produeix a introduir el patró mitjançant una xeringa de vidre, en aquest estudi s'han utilitzat les quantitats següents:

Per a les mostres:

- Patró d'alcans C-36 (53 ng/ μ L): 200 μ L
- Patró de GDGT's GR-STD (2 μ g/10 μ L): 20 μ L

Per al blanc:

- Patró d'alcans C-36 (53 ng/ μ L): 200 μ L
- Patró de GDGT's GR-STD (2 μ g/10 μ L): 20 μ L
- Mix alcohols: 400 μ L
 - C₃₀-OH (23 ng/ μ L)
 - C₂₀-OH (33 ng/ μ L)
- Àcids alcanoics:
 - 400 μ L àcid esteàric (25 ng/ μ L)
 - 400 μ L C₂₄COOH (26 ng/ μ L)

Com es pot observar els patrons d'alcohols i àcids alcanoics només s'han introduït als blancs, s'ha realitzat d'aquesta manera per tal de que no interfereixin en el resultat de les mostres, ja que els patrons utilitzats si que son presents de forma natural a les mostres i per tant la senyal obtinguda seria major que a la realitat. Per tant, en aquests casos, actuaran com a patrons externs enlloc d'interns.

3.5.4 Addició del dissolvent d'extracció:

Finalment s'introdueixen 50mL de dissolvent d'extracció diclorometà:metanol (3:1) i es segellen hermèticament els recipients.

3.5.5 Introducció al microones:

Un cop introduïdes les mostres al microones s'inicia el procés d'extracció. Es realitza una rampa d'augment de la temperatura fins a 70°C en dos minuts i mig, aplicant una potència de 1200W, a continuació es manté aquesta temperatura durant cinc minuts i s'inicia el refredament. La utilització del microones s'ha fet seguint el protocol 1.3 "Utilització del microones" elaborat pel Laboratori LERA ICTA. El nombre total de mostres analitzades és de 23, per aquest motiu, com que la capacitat del microones és de 14 recipients per operació, s'han realitzat dues sessions d'extracció. La primera formada per 13 mostres i un blanc i la segona per 11 mostres (una mostra repetida) i un blanc.

3.6 Eliminació del contingut d'aigua de les mostres

Una vegada acabat el procés d'extracció al microones, el dissolvent d'extracció conté els compostos solubilitzats de la mostra i una quantitat indeterminada d'aigua que es trobava de forma natural en aquesta. Per tal d'extreure l'aigua s'hauria pogut optar per realitzar prèviament un assecat de la mostra a l'estufa, tot i així, aquest procediment s'ha descartat

perquè podria alterar els compostos orgànics presents en aquesta. En aquest cas, s'ha optat per una eliminació de l'aigua mitjançant columnes de sulfat de sodi (Na_2SO_4) després de realitzar l'extracció al microones. Prèviament a la seva utilització i per tal d'eliminar qualsevol resta de matèria orgànica s'ha posat el sulfat de sodi a la mufla durant 6 hores a 450°C . La utilització de la mufla s'ha fet seguint el protocol 1.8 "Utilització de la mufla" elaborat pel Laboratori LERA ICTA.

Les columnes es realitzen utilitzant com a suport el cos de xeringues de vidre. Es col·loca una mica de cotó a la part més propera a la punta de la xeringa i s'afegeix el sulfat de sodi per la part superior mitjançant una espàtula. A continuació, amb l'ajuda d'una pipeta, s'introdueix l'extracte líquid del recipient per la part superior de la columna i es recull el dissolvent sense aigua en un baló correctament identificat amb el codi de la mostra.

3.7 Evaporació al rotavapor

Com que la mostra que volem analitzar es troba continguda en un volum bastant considerable de dissolvent (50mL), és realitza un procés de concentració mitjançant evaporació al Rotavapor a una temperatura de 25°C . La utilització d'aquest aparell s'ha fet seguint el protocol 1.6 "Utilització del rotavapor" elaborat pel Laboratori LERA ICTA.

3.8 Introducció de la mostra concentrada en tubs d'assaig

Cal mencionar que per a augmentar el grau d'extracció dels compostos desitjats, cada mostra s'ha sotmès a dos processos d'extracció al microones. Així doncs, un cop evaporat l'extracte líquid resultant de la primera extracció, es tornen a realitzar els passos 2.5.4, 2.5.5, 2.6 i 2.7. El resultat final és un baló que conté el producte de dues extraccions al microones evaporades.

S'agafa el baló amb la mostra evaporada, amb una pipeta Pasteur s'introdueix un petit volum de DCM 3:1, s'homogeneïtza el contingut del baló, intentant re-dissoldre les restes que hagin pogut quedar per les parets i es trasllada a un tub d'assaig correctament identificat. Es repeteix el aquest procediment fins a omplir un 80% de la capacitat del tub d'assaig. Posteriorment es centrifuguen el tub a 1500 rpm durant 10 minuts seguint el protocol 1.4 "Utilització de la centrifuga" elaborat pel Laboratori LERA ICTA. Finalment es trasllada el sobrenedant resultant de la centrifugació a un segon tub d'assaig correctament identificat i es col·loca a l'assecador de flux de nitrogen per tal d'evaporar el dissolvent i obtenir un extracte sec. La utilització de l'assecador de nitrogen es fa seguint el protocol 1.7 "Utilització de l'assecador de N_2 " elaborat pel Laboratori LERA ICTA.

3.9 Fraccionament amb columnes d'aminopropil

3.9.1 Introducció:

L'objectiu del procés de fraccionament és separar els diferents compostos de la mostra en funció de la seva polaritat i mida molecular. Per tal de realitzar aquesta separació el mètode escollit ha estat la cromatografia en columna. Aquesta tècnica es basa en les interaccions de la mostra amb una fase estacionària i una fase mòbil que formen el sistema.

La fase estacionària es col·loca a l'interior d'una columna de vidre i s'impregna amb la fase mòbil, a continuació s'introdueix per la part superior la mostra que volem fraccionar i es va afegint fase mòbil. Aquesta facilita l'elució de la mostra a través de la columna mitjançant l'acció de la gravetat. Els compostos de la mostra menys polars, que tenen poca o nul·la capacitat d'interacció amb la fase estacionària, seran els primers en sortir de la columna, en canvi, les substàncies més polars es veuran més retingudes dins el sistema i d'aquesta manera es podran recollir en una altra fracció. El temps que es necessita per fer fluir un compost per la columna s'anomena temps de retenció, és característic de cada substància i depèn de paràmetres com la pressió, el diàmetre de la columna i la composició de la fase mòbil i l'estacionària. Per tal de millorar el fraccionament es poden utilitzar diferents fases mòbils, és a dir, diferents dissolvents. L'addició de diferents solvents es realitza principalment per afegir un gradient de polaritat a la fase mòbil durant la cromatografia. Els components més apolars de la mostra tindran una afinitat major amb dissolvents apolars, de la mateixa manera que els compostos més polars seran més fàcilment solubles en dissolvents polars, d'aquesta manera el fraccionament resultant és més selectiu.

La cromatografia realitzada és una adaptació de Gale Bateman & Jenkins (1997). La fase estacionària utilitzada ha estat aminopropil i s'han utilitzat tres dissolvents per tal d'aplicar addicionalment un gradient de polaritat, la fase mòbil doncs, estava formada per (de menys polar a més polar): cloroform:2-propanol (2:1), àcid acètic en dietilèter (2% V/V) i metanol. Per tant, un cop realitzada la cromatografia s'han obtingut tres fraccions, la primera amb els alcans i els alcanols, la segona amb els àcids grassos i la tercera amb els GDGT'S presents a cada mostra. El procés realitzat al laboratori queda recollit en l'apartat següent.

3.9.2 Procediment:

Com a suport per a la fase estacionària s'ha utilitzat una xeringa de vidre de 15 mm de diàmetre i 110 mm de llargada. L'aminopropil ha estat netejat prèviament mitjançant un soxhlet amb DCM:Metanol (2:1) durant 12 hores, la utilització del soxhlet es fa seguint el protocol 1.10 "Utilització del Soxhlet" elaborat pel Laboratori LERA ICTA. Amb unes pinces s'afegeix una mica de cotó a la base per tal de no perdre la fase estacionària i es fixa la columna al seu suport. A continuació pesem 500 mil·ligrams d'aminopropil i els afegim a la columna.

El primer pas de la cromatografia és realitzar un acondicionament de la columna amb n-hexà, d'aquesta manera s'humidifica la fase estacionària i s'aconsegueix una distribució homogènia de la mostra per tota la columna millorant la qualitat del fraccionament.

S'agafa el tub que conté la mostra, s'hi afegeixen 0,5mL de cloroform i es transfereixen a la part superior de la columna.

Tot seguit es mesuren amb una proveta 4mL del primer dissolvent (cloroform:2-propanol, 2:1), es dipositen al tub primari de la mostra per tal de recollir les restes que encara puguin haver-hi i es traspassen els 4mL a la columna. Es recull la fracció eluïda en un tub correctament identificat, aquest correspon a la primera fracció, l'apolar, que conté els alcans i alcanols.

A continuació es mesuren amb una proveta 8mL del segon dissolvent (àcid acètic en dietilèter, 2% V/V), repetim la operació de neteja del tub primari i transvasem el contingut a la columna, recollint d'aquesta manera la segona fracció, que conté els àcids grassos.

Per últim, mesurem amb una proveta 4mL del tercer dissolvent (metanol), repetim el mateix procediment realitzat amb els altres dissolvents i recollim en un tub la tercera fracció amb els GDGT's. Cal mencionar que aquesta fracció no entrava dins de l'àmbit d'estudi d'aquest projecte, però s'ha recollit igualment per a realitzar-ne estudis complementaris.

Un cop tenim tots els tubs corresponents a les tres fraccions resultants de cada mostra, es posen a evaporar a l'assecador de flux de nitrogen. Una vegada tenim els tubs evaporats s'hi afegeixen 1,5mL de cada dissolvent segons la fracció que hagi contingut i es re-dissol el seu contingut, posteriorment es transvasa a un vial i s'identifica amb el codi de la mostra i la fracció a la qual correspon. Finalment s'assequen els vials al concentrador de flux de nitrogen, es tapen i es guarden al congelador.

3.10 Anàlisi molecular

3.10.1 Introducció:

Per analitzar les mostres s'ha utilitzat un cromatògraf de gasos acoblat a un espectròmetre de masses. La cromatografia de gasos és una tècnica de separació semblant a la cromatografia en columna però amb la diferència de que la fase mòbil és un gas que no interacciona amb els compostos de la mostra. En una primera etapa, la mostra es volatilitza i s'injecta a la columna cromatogràfica, on el gas inert actua de transportador, eluint la mostra a través de la columna. La fase estacionària reté selectivament els diferents compostos presents a la mostra i aquests sortiran de la columna de forma separada en funció del seu temps de retenció. A la sortida de la columna els compostos passen per un detector, en aquest cas un espectròmetre de masses.

3.10.2 Cromatògraf de gasos:

S'agafen els vials de les diferents fraccions de les mostres i se'ls hi afegeix 800 µL d'iso-octà per tal de dissoldre el seu contingut. La mostra s'introdueix a l'aparell mitjançant una micro-xeringa que transferirà 1 µL d'aquesta a l'interior de la cambra de d'injecció, a continuació la mostra es volatilitza i s'injecta a la columna.

Els aspectes tècnics de l'injector i la columna queden especificats a continuació:

- Injector: INLET a 300°C en mode Splitless.
- Columna: DB-5MS, longitud 30m, 250 µm Ø, gruix del film 0,25µm. Amb una pre-columna de 5m i 250 µm Ø.

Un cop la mostra s'introdueix a la columna, aquesta es desplaça mitjançant un flux d'heli que actua com a fase mòbil, facilitant el transport de la mostra a través de la columna. Inicialment s'aplica un flux d'heli de 0.4ml/min durant 0,9 minuts i posteriorment s'augmenta a 2ml/min. Dins de la columna les mostres estan a 70°C durant 2 minuts i a continuació augmenta la temperatura fins a 320°C, a raó de 6°C/min, aquesta temperatura es mantindrà durant 20 minuts. D'aquesta manera, els diferents components s'aniran separant en funció del seu temps de retenció fins a sortir per la línia de transferència, que també està a 320°C, i entrar al detector.

3.10.3 Espectròmetre de masses:

El detector acoblat al cromatògraf de gasos és un espectròmetre de masses. En sortir de la columna els components de la mostra entren en contacte amb una font de ionització a 250°C, aquesta separa les molècules en ions amb una relació massa-càrrega (m/z) específica. Mitjançant un camp elèctric s'acceleren els ions i posteriorment es sotmeten a un camp magnètic (temperatura del quadrupol = 150°C), aquests es desviaran en funció de la seva relació m/z , ja que el radi de curvatura és proporcional a la massa de l'ió. Finalment un detector registra la distància a la qual ha impactat l'ió i la variació del corrent produïda a la seva superfície, aquests dos factors permeten elaborar l'espectre de massa característic que identifica la molècula. Totes les fraccions s'han analitzat en mode SCAN, amb un rang m/z de 50 a 650 uma.

3.10.4 Interpretació dels cromatogrames:

Els impulsos elèctrics generats pel detector són interpretats pel software MSD ChemStation d'Agilent Technologies, aquest elabora un cromatograma amb els temps de retenció dels diferents compostos (eix X) i la intensitat de senyal que han provocat en el seu pas pel detector (traduïda en abundància i representada a l'eix Y) (Figura 3.2). Cada pic del cromatograma correspon a un compost diferent de la mostra, la seva àrea es pot quantificar en relació a un patró que es fragmenta de la mateixa manera. La identificació i quantificació dels compostos es realitza en dues etapes.

En primer lloc, s'aplica un mètode d'integració automàtic que selecciona els compostos desitjats en funció del seu temps de retenció i massa molecular. Per tal de determinar els alcans, alcanols i àcids grassos presents a les mostres, s'han elaborat tres mètodes d'integració específics per a cada un d'ells. D'aquesta manera, a les mostres corresponents a la primera fracció se'ls hi ha aplicat els mètodes d'integració per alcans i alcanols, i a la segona fracció s'hi ha aplicat el mètode d'integració per a àcids grassos. Les masses i temps de retenció introduïts per a cada mètode queden recollides a la Taula A1 de l'annex.

Adicionalment, amb la finalitat de comprovar que la identificació ha estat realitzada correctament s'ha utilitzat una biblioteca digital del National Institute of Standards and Technology (software NIST MS Search 2.0), que compara l'espectre m/z d'un compost obtingut a la mostra amb una base de dades universal d'espectres m/z i proporciona la correspondència més significativa.

En segon lloc, mitjançant el software informàtic es calcula l'àrea de cada pic del cromatograma, aquesta és directament proporcional a la quantitat de compost present a la mostra i es calcula utilitzant la següent fórmula:

$$Q_x = \frac{A_x \cdot Q_{patró}}{A_{patró}} \quad (\text{equació 3.1})$$

Q_x : quantitat del component x present en els grams de mostra extrets (ng).

A_x : àrea del pic del cromatograma corresponent al compost x.

$Q_{patró}$: quantitat del patró corresponent afegida a la mostra (ng).

$A_{patró}$: àrea del pic del cromatograma corresponent al patró.

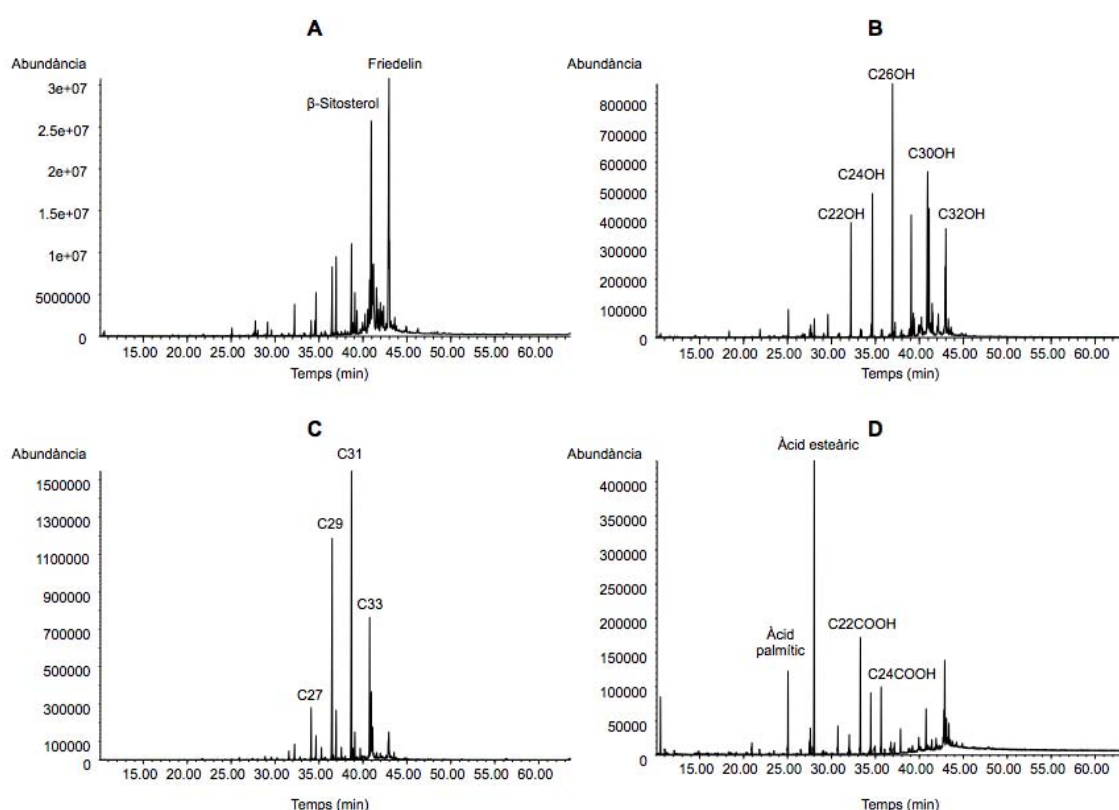


Figura 3.2: Exemple de cromatogrames obtinguts. Mostra CAY. **A:** cromatograma ions totals (TIC), **B:** alcohols, **C:** alcans i **D:** àcids alcanoics. Font: elaboració pròpia.

Finalment, per saber la concentració real de cada compost a les diferents mostres s'utilitza la fórmula següent:

$$C_x = \frac{Q_x}{\text{pes mostra}_i} \quad (\text{equació 3.2})$$

C_x : concentració real del compost x per gram de mostra (ng/g)

Q_x : quantitat del component x present en els grams de mostra extrets (ng).

Pes mostra: quantitat de mostra pesada per a l'extracció (g).

3.11 Quantificació de la matèria orgànica total: *Loss on ignition*

3.11.1 Introducció:

La tècnica *Loss on ignition* (LOI) o pèrdua per ignició, és un mètode simple de determinació del contingut de carboni orgànic i carbonats en sòls. En una primera reacció es produeix l'oxidació de la matèria orgànica a 500 – 550°C, emetent-se diòxid de carboni i cendres, a la segona reacció es produeix la destrucció dels carbonats a 900 – 1000°C, amb emissió de diòxid de carboni i la formació d'òxids. La pèrdua de pes durant les reaccions es pot apreciar senzillament pesant la mostra abans i després de cada reacció i és proporcional a la quantitat de matèria orgànica i carbonats presents a la mostra (Heiri, Lotter, & Lemcke, 2001).

Tot i tractar-se d'un mètode relativament senzill, existeixen diversos factors associats a la metodologia de treball que poden alterar els resultats obtinguts. Aquests factors són: el temps d'exposició, la mida de la mostra i la seva posició al forn. La pèrdua de massa de la mostra es produeix principalment en les primeres 2 – 2,5 hores d'exposició, si el temps es prolonga excessivament es pot seguir experimentant una pèrdua lleugera però continua de pes provocada per processos no relacionats amb l'oxidació de la matèria orgànica. En el cas de la mida, les mostres petites experimenten una pèrdua de pes més ràpida que les grans, per tant, s'ha d'utilitzar una mida constant de totes les mostres.

3.11.2 Procediment:

El procediment realitzat és una adaptació de Heiri et al., 2001. S'agafen safates d'alumini petites i es posen a l'estufa durant 1 hora a 105°C per eliminar la humitat que puguin contenir. Es deixen refredar al dessecador durant 30 minuts i s'anota el pes amb la balança de precisió. A continuació es pesa 1g de mostra a la safata i es posa a l'estufa a 105°C durant 15 hores, per tal d'eliminar l'aigua que puguin contenir.

Un cop seques es deixen refredar al dessecador durant 30 minuts i es pesen, anotant d'aquesta manera el pes sec, DW_{105} . Tot seguit es posen al forn mufla a 550°C durant 4 hores, una vegada finalitzat el procés es deixen refredar les mostres al dessecador durant 1 hora i es tornen a pesar, obtenint el pes de les cendres, DW_{550} .

Per tal de calcular el LOI s'utilitza la següent equació:

$$LOI = \frac{(DW_{105} - DW_{550})}{DW_{105}} \cdot 100 \quad (\text{equació 3.3})$$

LOI: Loss on ignition (%).

DW_{105} : pes de la mostra assecada a 105°C (g).

DW_{555} : pes de la mostra volatilitzada a 550°C (g).

La utilització de la mufla s'ha fet seguint el protocol 1.8 "Utilització de la mufla" elaborat pel Laboratori LERA ICTA. El programa aplicat constava d'una rampa d'escalfament de cinc hores i mitja fins assolir una temperatura de 550°C, una fase de 4 hores a temperatura constant de 550° i el refredament. No s'ha considerat la posició de les mostres dins el forn com un factor potencialment influent el els resultats obtinguts ja que la mufla utilitzada era de petites dimensions i per tant la distribució de la temperatura era homogènia al seu interior. S'han realitzat tres rèpliques de cada mostra per tal d'obtenir una major fiabilitat dels resultats.

4. RESULTATS

4. RESULTATS

4.1 Quantificació i concentració

Una vegada integrada l'àrea dels pics dels diferents compostos presents a cada mostra, s'ha procedit a calcular la quantitat i concentració d'aquests mitjançant les equacions 3.1 i 3.2 de l'apartat de metodologia. Les concentracions totals de lípids alquilats es poden consultar a les taules A3, A4 i A5 de l'annex i es representen mitjançant els gràfics que es mostren a continuació:

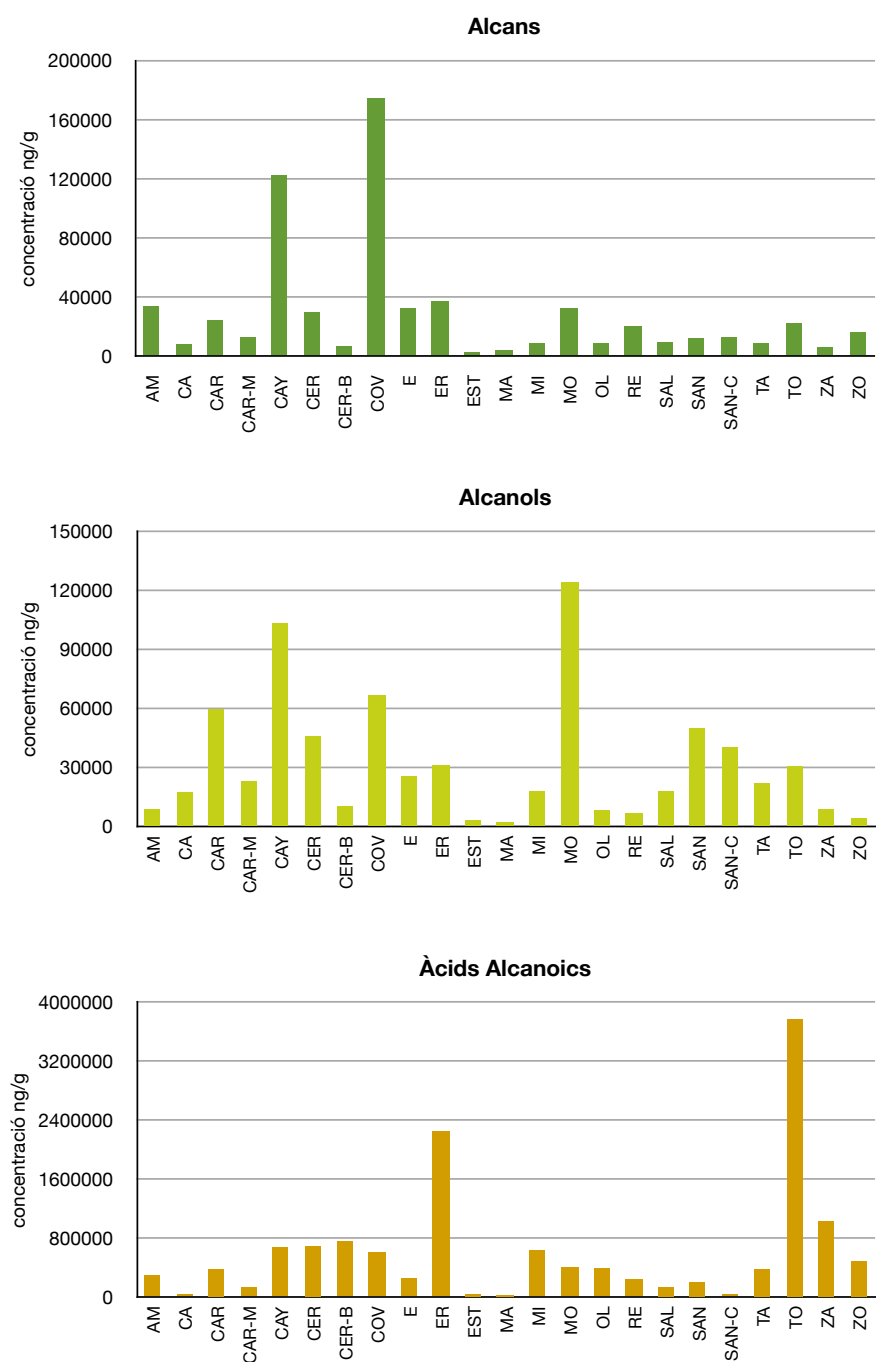


Figura 4.1: Concentracions totals de lípids alquilats a les mostres. Font: Elaboració pròpia.

Els resultats referents a les concentracions dels diferents tipus d'alcans, alcanols i àcids alcanòics per mostra poden ser consultats a les taules A3, A4 i A5 de l'annex i es representen a les següents figures (correspondència codi-mostra visible a la Taula 2.2):

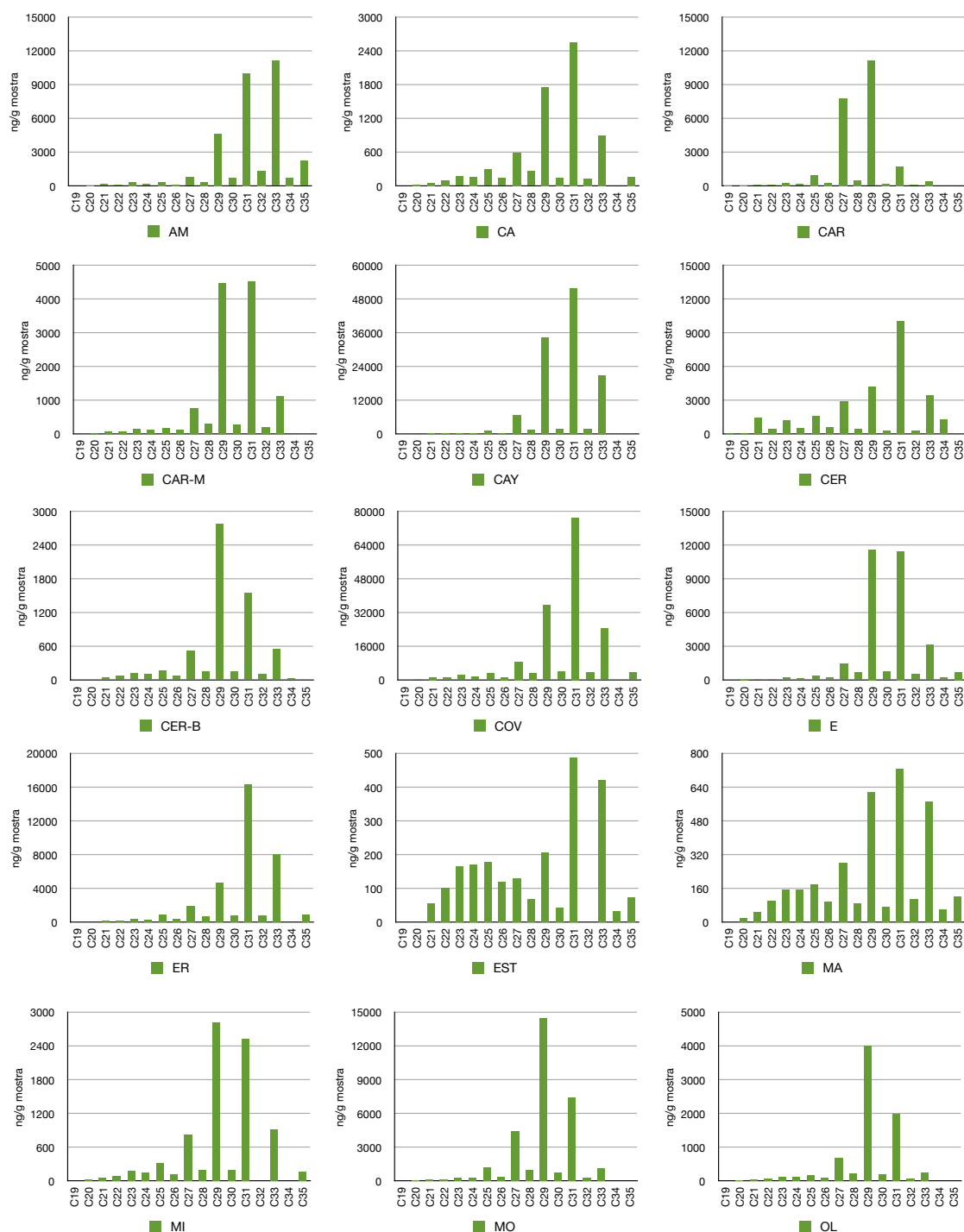


Figura 4.2: Concentracions dels diferents alcans a les mostres. Font: Elaboració pròpia.

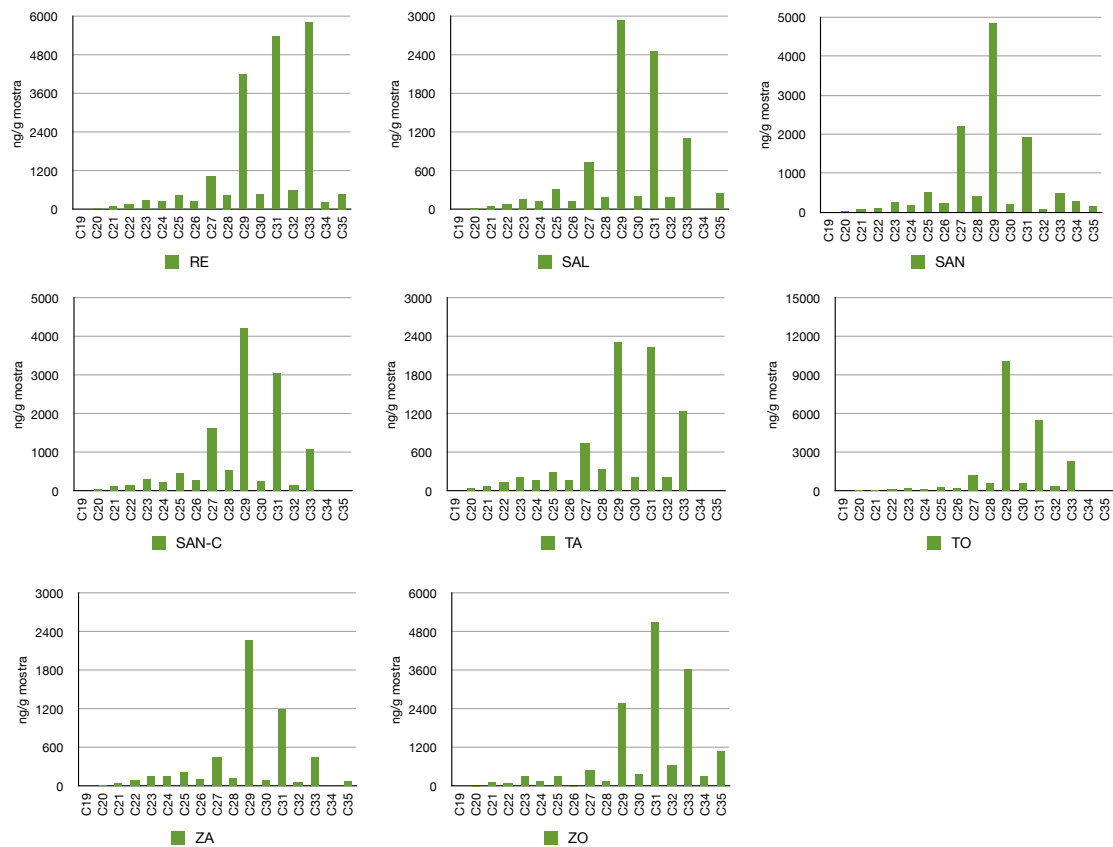


Figura 4.2: Concentracions dels diferents alcans a les mostres (continuació). Font: Elaboració pròpia.

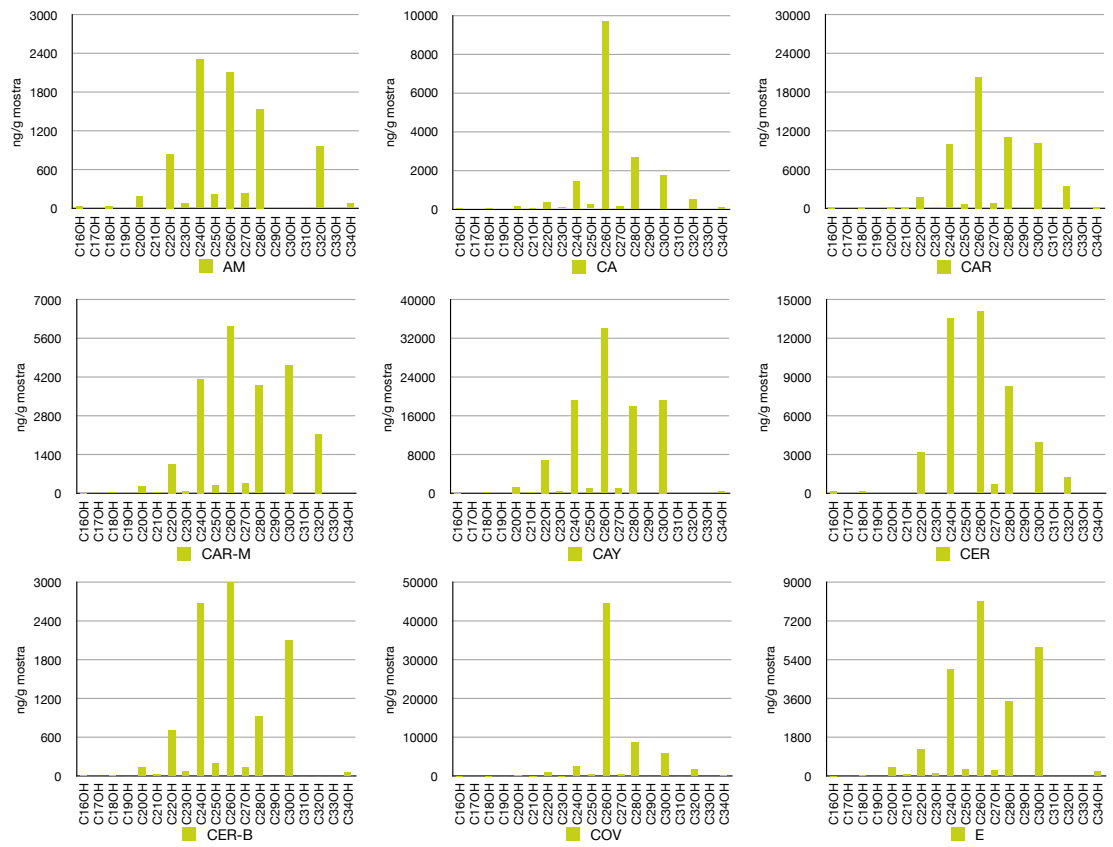


Figura 4.3: Concentracions dels diferents alcanols a les mostres. Font: Elaboració pròpia.

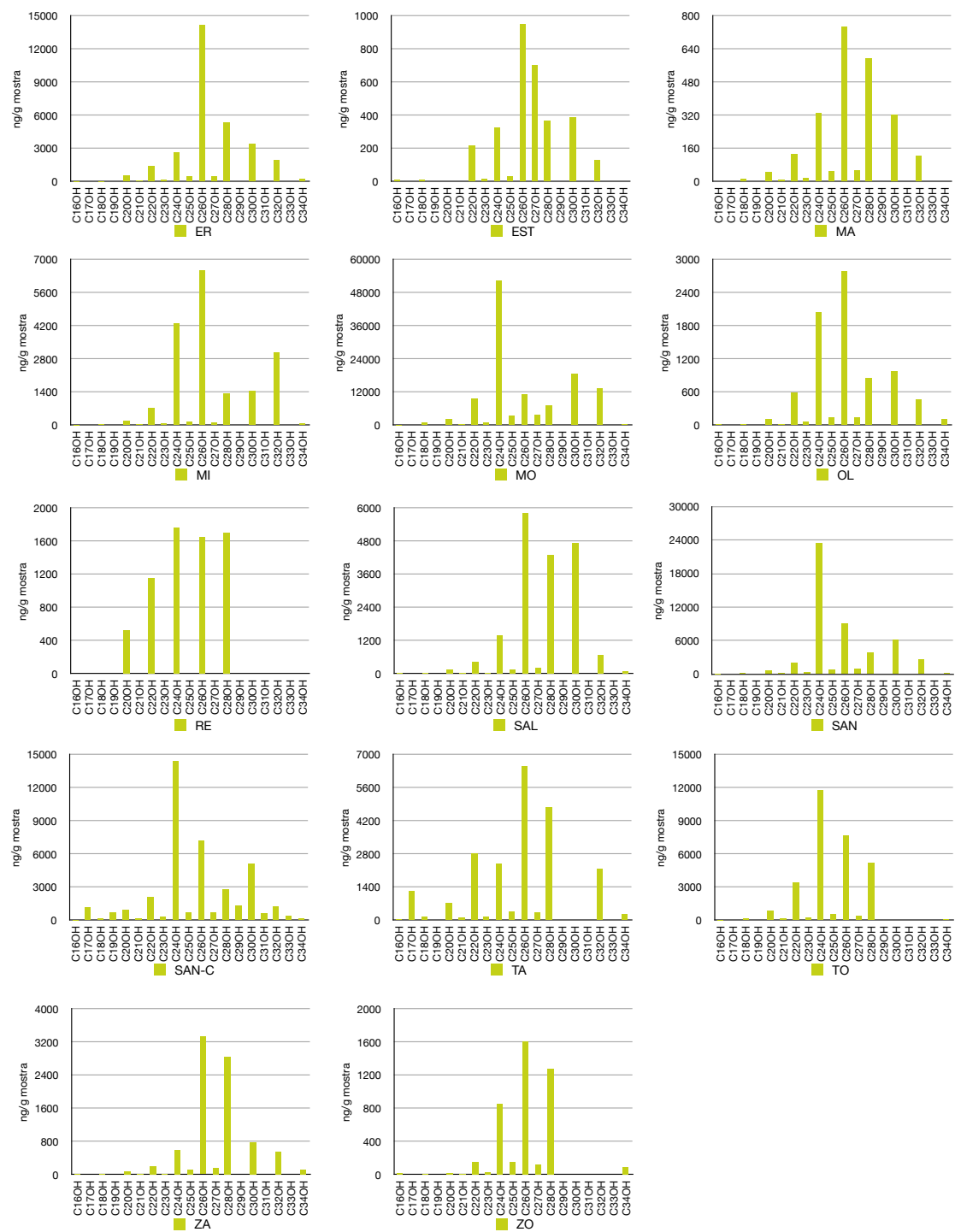


Figura 4.3: Concentracions dels diferents alcohols a les mostres (continuació). Font: Elaboració pròpia.

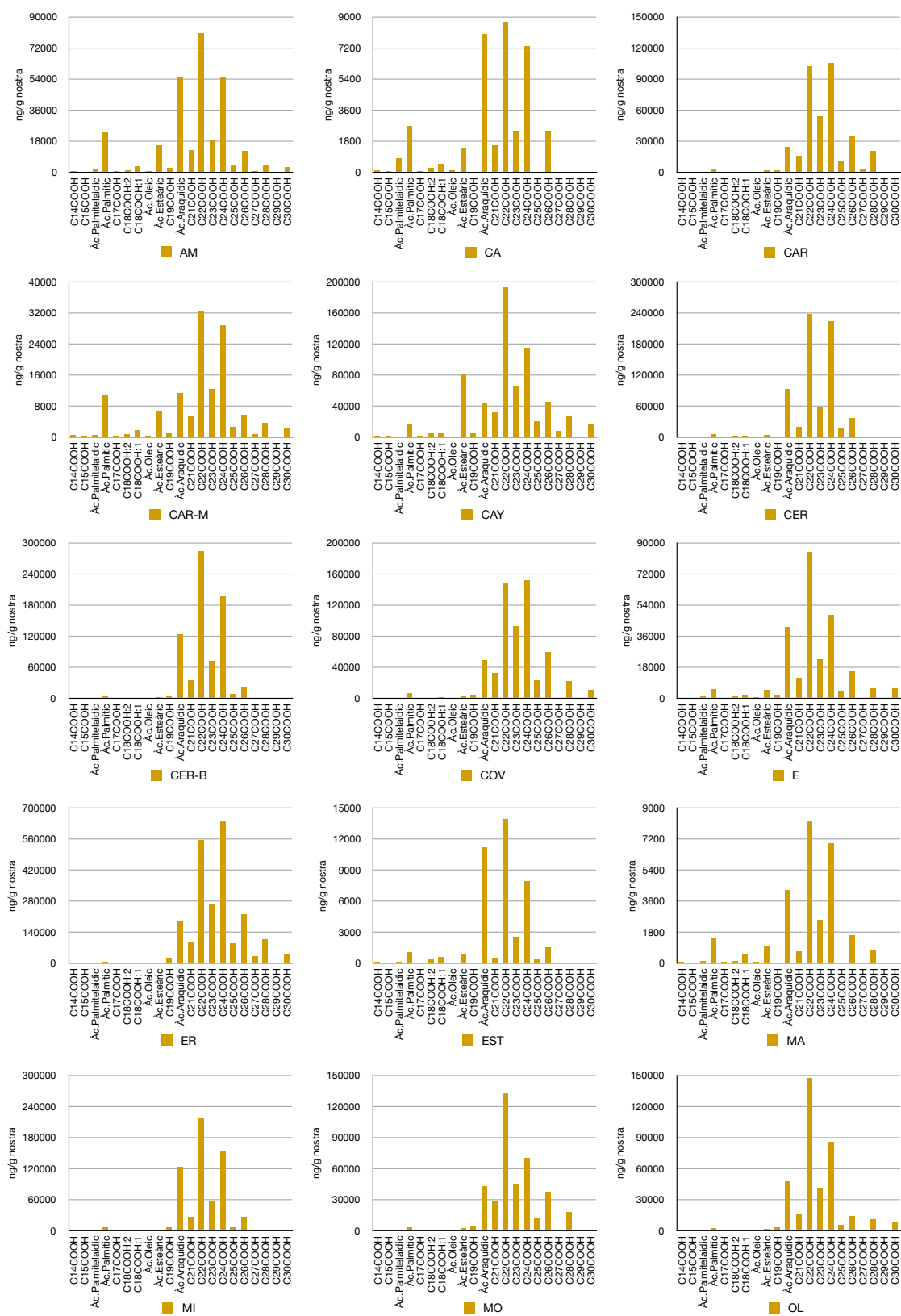


Figura 4.4: Concentracions dels diferents àcids alcanoics a les mostres. Font: Elaboració pròpia.

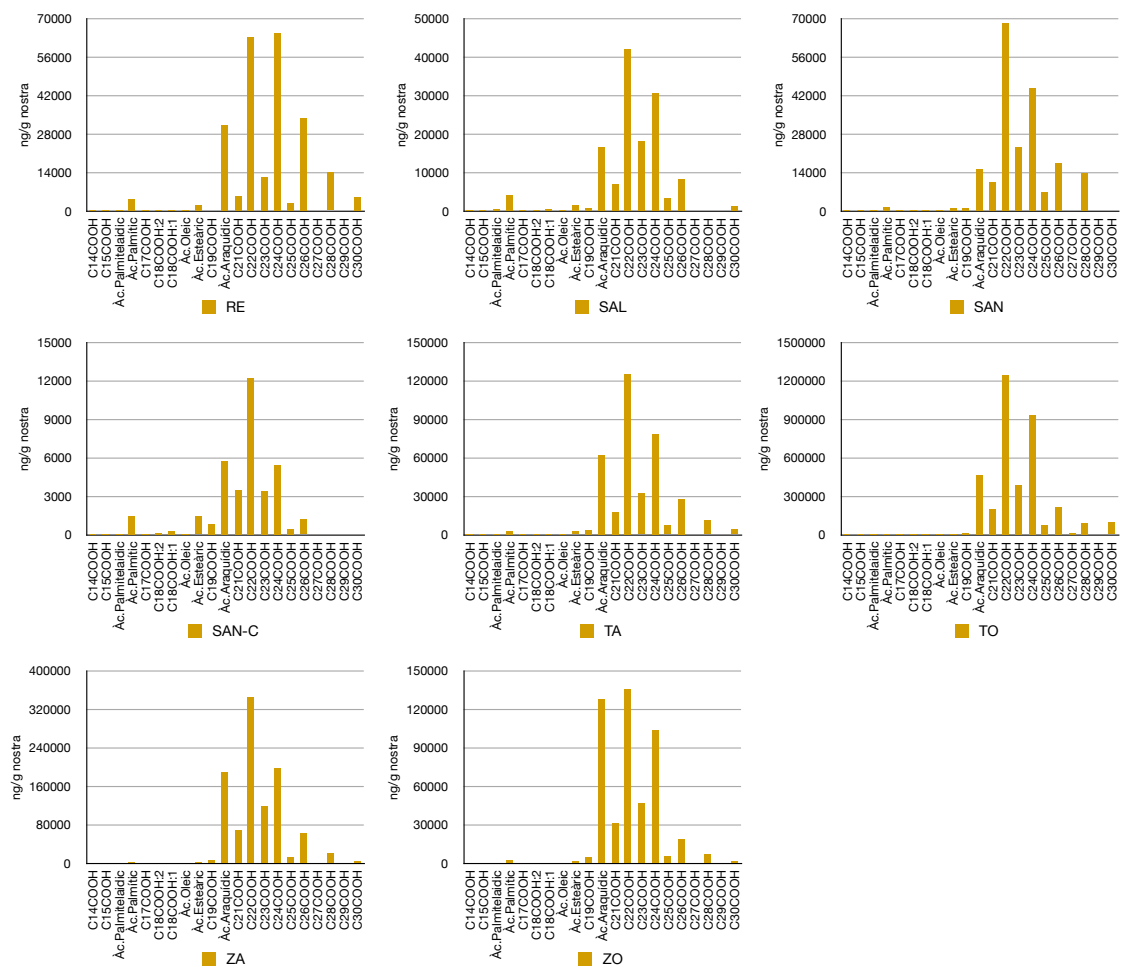


Figura 4.4: Concentracions dels diferents àcids alcanoics a les mostres (continuació). Font: Elaboració pròpia.

4.2 Índex de preferència de carboni

El càlcul de l'índex de preferència de carboni (CPI) dels lípids alquil de les mostres s'ha fet en base a l'equació 1.1 aplicada als resultats recollits a les taules A3, A4 i A5. Pels alcans la fórmula considera el rang de $n\text{-C}_{25} \rightarrow n\text{-C}_{33}$ i, en els casos de d'alcanols i àcids alcanoics, s'ha adaptat el rang de carbonis considerat a la fórmula. Pels alcanols s'ha agafat el rang de $n\text{-C}_{20} \rightarrow n\text{-C}_{32}$ i per àcids alcanoics de $n\text{-C}_{20} \rightarrow n\text{-C}_{28}$. Els resultats obtinguts queden recollits a la següent taula (correspondència codi-mostra visible a la Taula 2.2):

Mostra	CPI Alcans	CPI Alcanols	CPI Àcids Alcanoics
AM	8,8	14,7	5,6
CA	7,9	32,0	6,7
CAR	18,4	28,5	3,4
CAR-M	11,6	26,9	3,9
CAY	19,6	33,1	3,4
CER	8,6	57,4	6,4
CER-B	9,7	21,4	5,4
COV	10,9	54,1	2,9
E	11,1	28,8	5,0
ER	10,6	24,4	3,5
EST	4,5	3,2	10,1
MA	5,0	17,6	6,9
MI	12,6	49,2	5,7
MO	11,1	13,9	3,4
OL	10,5	22,4	4,7
RE	8,4	n.d	10,0
SAL	9,6	39,3	3,4
SAN	8,6	21,7	3,8
SAN-C	7,8	7,7	3,2
TA	6,6	20,3	5,1
TO	9,8	21,4	4,3
ZA	9,9	26,7	4,0
ZO	8,3	12,1	4,6

Taula 4.1: Índex de preferència de carboni de les mostres. Font: Elaboració pròpia.

4.3 Longitud mitjana de cadena

Per al càlcul de la longitud mitjana de les cadenes de lípids alquil presents a les mostres s'ha utilitzat l'equació 1.2 aplicada als resultats recollits a les taules A3, A4 i A5. En el cas dels alcans el rang de carbonis utilitzat en el càlcul de la fórmula ha estat $n\text{-C}_{25} \rightarrow n\text{-C}_{35}$ i s'identifica també el més abundant. Pels alcanols s'ha utilitzat el rang $n\text{-C}_{22} \rightarrow n\text{-C}_{32}$ i per els àcids alcanoics $n\text{-C}_{18} \rightarrow n\text{-C}_{28}$. Els resultats obtinguts queden recollits a la següent taula (correspondència codi-mostra visible a la Taula 2.2):

Mostra	Alcans		Alcanols		Àcids alcanoics	
	ACL	C _{MÀX}	ACL	C _{MÀX}	ACL	C _{MÀX}
AM	31,6	n-C ₃₃	28,1	n-C ₂₄ OH	24,1	n-C ₂₂ COOH
CA	30,2	n-C ₃₁	28,7	n-C ₂₆ OH	24,1	n-C ₂₂ COOH
CAR	28,4	n-C ₂₉	29,0	n-C ₂₆ OH	25,5	n-C ₂₄ COOH
CAR-M	30,0	n-C ₃₁	29,2	n-C ₂₆ OH	24,6	n-C ₂₂ COOH
CAY	30,5	n-C ₃₁	28,5	n-C ₂₆ OH	24,3	n-C ₂₂ COOH
CER	30,0	n-C ₃₁	28,0	n-C ₂₆ OH	24,7	n-C ₂₂ COOH
CER-B	29,6	n-C ₂₉	28,2	n-C ₂₆ OH	24,4	n-C ₂₂ COOH
COV	30,6	n-C ₃₁	28,7	n-C ₂₆ OH	25,3	n-C ₂₄ COOH
E	30,2	n-C ₂₉	28,7	n-C ₂₆ OH	24,5	n-C ₂₂ COOH
ER	30,9	n-C ₃₁	28,9	n-C ₂₆ OH	25,4	n-C ₂₄ COOH
EST	30,4	n-C ₃₁	28,7	n-C ₂₆ OH	23,9	n-C ₂₂ COOH
MA	30,3	n-C ₃₁	28,9	n-C ₂₆ OH	24,5	n-C ₂₂ COOH
MI	29,9	n-C ₂₉	28,9	n-C ₂₆ OH	24,3	n-C ₂₂ COOH
MO	29,2	n-C ₂₉	28,2	n-C ₂₄ OH	25,0	n-C ₂₂ COOH
OL	29,4	n-C ₂₉	28,2	n-C ₂₆ OH	24,6	n-C ₂₂ COOH
RE	30,9	n-C ₃₃	27,2	n-C ₂₄ OH	25,3	n-C ₂₄ COOH
SAL	30,0	n-C ₂₉	29,6	n-C ₂₆ OH	24,6	n-C ₂₂ COOH
SAN	29,0	n-C ₂₉	27,8	n-C ₂₄ OH	25,3	n-C ₂₂ COOH
SAN-C	29,5	n-C ₂₉	27,9	n-C ₂₄ OH	23,9	n-C ₂₂ COOH
TA	30,0	n-C ₂₉	28,4	n-C ₂₆ OH	24,7	n-C ₂₂ COOH
TO	29,8	n-C ₂₉	27,0	n-C ₂₄ OH	24,8	n-C ₂₂ COOH
ZA	29,6	n-C ₂₉	29,2	n-C ₂₆ OH	24,5	n-C ₂₂ COOH
ZO	31,2	n-C ₃₁	28,1	n-C ₂₆ OH	24,2	n-C ₂₂ COOH

Taula 4.2: Longitud mitjana de cadena de les mostres. Font: Elaboració pròpia.

4.4 Relació C_{31}/C_{27}

El càlcul de la relació C_{31}/C_{27} s'ha fet a partir dels resultats recollits a les taules A3, A4 i A5, (correspondència codi-mostra visible a la Taula 2.2):

Mostra	Ratio C_{31}/C_{27}	Mostra	Ratio C_{31}/C_{27}
AM	12,58	MI	3,05
CA	4,25	MO	1,67
CAR	0,23	OL	2,92
CAR-M	5,91	RE	5,18
CAY	7,63	SAL	3,32
CER	3,42	SAN	0,87
CER-B	2,93	SAN-C	1,86
COV	8,65	TA	3,01
E	7,88	TO	4,40
ER	8,26	ZA	2,69
EST	3,73	ZO	10,15
MA	2,57		

Taula 4.3: Relació C_{31}/C_{27} de les mostres. Font: Elaboració pròpia.

4.5 Altres compostos detectats

En l'anàlisi dels cromatogrames de les mostres s'ha realitzat la identificació de pics corresponents a compostos diferents dels lípids alquilats que presentaven abundàncies molt significatives. La identificació d'aquests compostos ha estat purament qualitativa i amb la finalitat d'observar quina era la seva naturalesa química (correspondència codi-mostra visible a la Taula 2.2):

Compost	Classe	Mostra
β -sitosterol	Fitosterol	AM, CA, CAR-M, CAY, CER, CER-B, COV, E, ER, EST, MA, MI, MO, RE, SAL, SAN, SAN-C, TA, TO, ZA, ZO
Àcid dehidroabiètic	Àcid carboxílic	CER, EST
Friedelin	Terpens	CAR-M, CAY, CER-B, MI, SAN, SAN-C
Estigmasterol	Fitosterol	CER-B, ZA
Campesterol	Fitosterol	CA, CER-B, ZA
Lupeol	Terpens	CER-B, SAL
Cedrol	Terpens	TO

Taula 4.4: Altres compostos abundants detectats. Font: Elaboració pròpia.

4.6 Determinació de la matèria orgànica total

Els resultats de la determinació de la matèria orgànica mitjançant la tècnica de pèrdua per ignició (LOI) queden recollits a la següent taula, s'ha utilitzat la equació 3.3 i s'ha realitzat el càlcul de la mitjana i la desviació estàndard de les tres rèpliques realitzades a cada mostra. Els valors corresponents a les diferents etapes de pesada es poden consultar a la taula A7 de l'annex (correspondència codi-mostra visible a la Taula 2.2):

Mostra	Rèplica 1	Rèplica 2	Rèplica 3	Mitjana LOI	Desviació estàndard
AM	3,62	3,75	3,83	3,74	0,11
CA	2,71	2,47	2,22	2,46	0,25
CAR	9,13	8,95	8,88	8,98	0,13
CAR-M	3,24	3,51	4,11	3,62	0,45
CAY	10,79	10,19	9,97	10,32	0,42
CER	17,26	19,19	18,42	18,29	0,97
CER-B	2,32	2,26	2,43	2,34	0,09
COV	6,43	5,93	6,58	6,31	0,34
E	5,57	5,97	5,94	5,83	0,22
ER	6,28	6,20	5,97	6,15	0,16
EST	1,72	1,44	1,37	1,51	0,19
MA	1,42	1,26	1,35	1,34	0,08
MI	2,71	2,76	2,71	2,73	0,03
MO	7,35	7,66	7,82	7,61	0,24
OL	2,56	2,41	2,72	2,56	0,16
RE	2,80	1,74	1,90	2,15	0,57
SAL	2,90	3,39	2,99	3,09	0,26
SAN	5,51	6,11	6,35	5,99	0,43
SAN-C	4,78	4,73	4,39	4,64	0,21
TA	5,79	5,99	5,52	5,77	0,24
TO	7,65	8,13	7,56	7,78	0,31
ZA	2,73	2,41	2,59	2,58	0,16
ZO	2,10	1,62	1,71	1,81	0,26

Taula 4.5: resultats de la determinació de matèria orgànica per ignició (%) (LOI). Font: Elaboració pròpia.

5. DISCUSSIÓ

5. DISCUSSIÓ

5.1 Origen dels lípids alquilats

L'anàlisi de les extraccions de lípids alquilats realitzades als sòls mostrejats presenta els patrons característics de distribució per alcans, alcanols i àcids alcanòics.

Els resultats obtinguts mostren una distribució d'alcans principalment de cadena llarga, ja que totes les cadenes d'alcans trobades tenen una longitud superior a 18 carbonis, tot i així, cal tenir en compte que els compostos més curts també es poden haver perdut per volatilització. El rang de longitud en totes les mostres està comprès entre $n\text{-C}_{19}$ i $n\text{-C}_{35}$, amb un clar predomini de cadenes amb un nombre imparell de carbonis respecte a les cadenes amb nombre parell i un màxim ($C_{\text{MÀX}}$) a $n\text{-C}_{29}$, $n\text{-C}_{31}$ o $n\text{-C}_{33}$ (Figura 4.2 i Taula 4.2) essent el nonacosà el més abundant en dotze de les mostres, seguit del hentricontà en nou mostres, i finalment tritricontà en dues mostres. Les concentracions totals d'alcans que presenten les mostres varien entre 2 – 174 $\mu\text{g/g}$ de mostra. L'índex de preferència de carboni (CPI) (Taula 4.1) oscil·la entre 4,5 i 19,6. En la determinació de la longitud mitjana de cadena (ACL) s'han obtingut valors compresos entre 28,4 i 31,6 carbonis per cadena.

D'aquesta manera, podem afirmar que la distribució d'alcans, la preferència de cadenes amb un nombre imparell de carboni, els màxims situats a $n\text{-C}_{29}$, $n\text{-C}_{31}$ o $n\text{-C}_{33}$, els valors de CPI superiors a 4 i les longituds mitjanes de cadena (ACL), evidencien que els alcans trobats en les mostres provenen de plantes vasculares (superiors).

També s'ha pogut detectar la presència d'una possible contaminació d'origen petrogènic en les mostres EST i MA, apreciable a la figura 4.2 a través d'una corba (UCM) entre $n\text{-C}_{21}$ i $n\text{-C}_{26}$ als respectius gràfics, i que també pot haver contribuït al fet de que aquestes dues mostres presentin els valors més baixos de l'índex CPI (4,5 i 5,0 respectivament) més propers al llindar indicatiu d'origen petrogènic. La causa d'aquesta contaminació possiblement s'explica en les característiques de la zona de mostreig, que en ambdós casos presentava evidències de la influència antròpica sobre l'entorn, principalment a través d'activitats agrícoles.

En el cas dels alcanols s'observa un rang de distribució entre $n\text{-C}_{16}\text{OH}$ i $n\text{-C}_{34}\text{OH}$, amb una clara preferència per cadenes amb un nombre parell de carbonis respecte a imparells i amb un màxim ($C_{\text{MÀX}}$) $n\text{-C}_{26}\text{OH}$ en 17 mostres i $n\text{-C}_{24}\text{OH}$ en 6 mostres (Figura 4.3 i Taula 4.2). Les concentracions totals d'alcanols obtingudes oscil·len entre 2 – 124 $\mu\text{g/g}$ de mostra. El càlcul de l'índex de preferència de carboni (CPI) mostra valors superiors a 4 en totes les mostres excepte una (EST), amb un rang d'entre 3,2 i 57,4 (Taula 4.1). Els resultats del càlcul de la longitud mitjana de cadena (ACL) mostren un rang d'entre 27,0 i 29,6 carbonis per cadena.

Podríem considerar que la preferència de cadenes amb nombre parell de carbonis respecte a imparells i els valors de CPI i ACL són indicatius d'un origen en plantes superiors. En el cas de la mostra EST és difícil determinar-ne l'origen dels alcanols, ja que possiblement

l'índex CPI s'ha vist alterat per la manca de diversos compostos necessaris a la fórmula i també per l'anòmala alta abundància d'alcanols amb una longitud de cadena de 27 carbonis. Aquestes complicacions poden ser degudes a la contaminació d'origen antròpic que ja s'havia posat de manifest en la mateixa mostra pels alcans. També cal mencionar el cas de la mostra RE, en la que la presència de únicament cinc alcanols diferents ha fet impossible determinar aquest índex.

Pel que fa als àcids alcanoics les distribucions estan compreses entre $n\text{-C}_{14}\text{COOH}$ i $n\text{-C}_{30}\text{COOH}$, es pot observar també la mateixa preferència de parells respecte a imparells observable en alcanols. Les seves distribucions oscil·len entre $n\text{-C}_{14}\text{COOH}$ i $n\text{-C}_{30}\text{COOH}$ amb un màxim $n\text{-C}_{22}\text{COOH}$ en 19 mostres i $n\text{-C}_{24}\text{COOH}$ en 4 mostres (Figura 4.4 i Taula 4.2). Les concentracions detectades tenen un rang d'entre 28 – 3.769 $\mu\text{g/g}$. L'índex de preferència de carboni (CPI) mostra valors d'entre 2,9 i 10,1 (Taula 4.1). La determinació de la longitud mitjana de cadena (ACL) dels àcids alcanoics de les mostres presenta valors que oscil·len entre 23,9 i 25,5 carbonis per cadena.

En aquest cas és més difícil avaluar l'origen dels àcids alcanoics, ja que els valors més baixos obtinguts en el càlcul del CPI i l'ACL ens indiquen que aquests compostos han patit processos d'alteració microbiana i diagenètica. Tot i així, existeix una clara evidència de preferència de cadenes de carboni amb un nombre parell d'àtoms respecte a imparells i tenint en compte que la naturalesa química d'aquestes substàncies les fa més susceptibles a la degradació (que sabem que s'ha produït degut als valors baixos de CPI i ACL) podem afirmar doncs, que els àcids alcanoics de les mostres provenen de plantes superiors.

En conclusió, les característiques dels alcans, alcanols i àcids alcanoics trobats a les mostres, permeten afirmar que aquests compostos són indicadors de la presència de plantes superiors i per tant es poden utilitzar com a biomarcadors de presència d'aquest tipus de vegetació.

5.2 Lípids alquilats com a proxies climàtics

Per a l'estudi de la viabilitat dels lípids alquilats com a proxies s'ha procedit a analitzar la relació estadística entre els valors dels diferents paràmetres climàtics dels punts de mostreig (latitud, temperatura, precipitació, etc.) i els resultats obtinguts dels diferents paràmetres calculats a les mostres (CPI, ACL, relació $\text{C}_{31}/\text{C}_{27}$ i LOI). S'ha utilitzat el programa SPSS Statistics per analitzar les correlacions bilaterals entre les diverses variables. Com que les dades no seguien una distribució normal i inclouen valors extrems, s'ha calculat el coeficient de correlació de Spearman, essent, en aquest cas, el mètode estadístic més apropiat. Els coeficients obtinguts es presenten en forma de matriu de correlacions a la taula A8 de l'annex.

Observant els resultats obtinguts, s'ha trobat una correlació negativa entre la precipitació i la longitud mitjana de cadena en alcans ($p=-0,496$ $\alpha=0,05$), és a dir quan la

precipitació augmenta la longitud de cadena disminueix. Aquest resultat és coherent amb el fet de que les plantes tendeixen a sintetitzar alcans amb una longitud de cadena més llarga sota condicions d'estrès hídric i en resposta a l'increment de temperatura (Jeng, 2006; Vogts, 2009), i ens permet afirmar que la longitud mitjana de cadena d'alcans serveix com a proxy per a la caracterització de la precipitació en una zona determinada.

Pel que fa a l'índex CPI cal destacar la correlació negativa que apareix amb la precipitació en el cas dels àcids alcanoics ($p=-0,688$ $\alpha=0,01$), aquesta possiblement s'explica pel fet de que una major precipitació afavoreix la degradació de la matèria orgànica per part dels organismes i els processos diagenètics, fet que implicarà un CPI més baix. Per tant, en el cas dels àcids alcanoics, el CPI podria ser útil com a proxy de precipitació.

En l'anàlisi estadístic de paràmetres relacionats amb la temperatura, com la temperatura anual mitjana, la temperatura mínima mitjana anual i la temperatura màxima mitjana anual, no s'han trobat correlacions significatives amb els lípids alquilats.

En el cas de la relació C_{31}/C_{27} calculada en alcans, apareix una correlació negativa amb la precipitació ($p=-0,600$ $\alpha=0,05$), és molt interessant la obtenció d'aquesta correlació perquè corrobora la idea de que aquesta ratio pren valors baixos en condicions d'humitat altes i valors alts en condicions àrides (Li et al., n.d.) i, per tant, podria esdevenir un proxy de precipitació.

Els resultats obtinguts ens permeten afirmar que els paràmetres calculats en lípids alquilats presenten un potencial significatiu com a proxies climàtics, principalment en la predicció de la precipitació. S'ha pogut comprovar com els índex ACL, CPI i la relació C_{31}/C_{27} són útils com a proxies paleoclimàtics de precipitació, principalment quan s'apliquen a lípids alquilats com els àcids alcanoics i els alcans.

5.3 Loss on ignition

En la determinació de la pèrdua de matèria orgànica per ignició s'han obtingut valors molt variats compresos entre 1,34 – 18,29 % (Taula 4.5). Els valors més baixos han sigut 1,34 i 1,51, obtinguts de les mostres MA i EST respectivament, cal destacar que aquests dos resultats poden haver tingut una influència significativa de les activitats agrícoles que es duen a la zona i que per tant contribueixen a la disminució de la matèria orgànica.

L'aplicació de l'anàlisi estadístic als resultats obtinguts de la pèrdua per ignició mostren algunes correlacions destacables. S'ha observat una correlació positiva amb els valors de precipitació ($p=0,591$ $\alpha=0,01$), aquest fet és perfectament coherent amb la idea de que indrets amb més precipitació tenen una productivitat de matèria orgànica major i per tant presenten valors més elevats de LOI. En aquesta línia també s'ha trobat una lleugera correlació positiva amb la latitud ($p=0,509$ $\alpha=0,05$), que s'explicaria amb el fet de que a la península ibèrica els punts de mostreig d'una latitud més elevada corresponen als de precipitacions més elevades i amb major productivitat tal com s'ha explicat anteriorment. També s'ha obtingut una correlació

negativa amb la temperatura mitjana ($p=-0,648$ $\alpha=0,01$), resultat totalment lògic si es té en compte la idea de que en llocs molt càlids la producció de matèria orgànica és menor i per tant s'obtenen valors més baixos del LOI.

Les correlacions existents entre aquests tres paràmetres climàtics i la determinació de la matèria orgànica total es manifesta de forma global amb una correlació amb la zona fitogeogràfica ($p=-0,800$ $\alpha=0,01$), zones que amb una vegetació potencial variable segons les característiques climàtiques que s'hi donen. En aquest cas, la correlació negativa evidencia valors baixos del LOI si les ubicacions són seques i caloroses, corresponents a terrenys poc productius normalment ubicats al sud de la península ibèrica, i valors alts del LOI en ubicacions més temperades i humides, pròpies del nord de la península i amb major productivitat de matèria orgànica.

Una altre relació interessant que s'ha pogut obtenir és la existent entre aquest paràmetre i el CPI d'alcans, amb el qual es dona una correlació positiva ($p=0,538$ $\alpha=0,01$) i de la qual podem extreure que contingut de matèria orgànica està, lògicament, estretament relacionat amb el grau de degradació que ha patit el sòl.

5.4 Altres compostos identificats

En algunes de les mostres, els cromatogrames presentaven pics molt significatius de compostos que no pertanyien al grup dels lípids alquilats. Durant el procés d'anàlisi es va procedir a identificar aquests compostos per veure quina era la seva naturalesa química i observar si presentaven característiques destacables que tinguessin alguna relació amb la ubicació dels punts de mostreig. Els compostos detectats, recollits a la taula 4.4, pertanyien a diferents espècies químiques.

En la majoria de les mostres es va trobar de forma abundant el β -sitosterol, un tipus d'esterol, que es troba de forma natural a les plantes i que té la funció de mantenir l'estructura i el funcionament de les membranes cel·lulars. Juntament amb aquesta substància es van trobar dos fitosterols més, el campesterol i el estigmasterol, abundants de forma natural a les plantes, i que es poden formar directament per biosíntesis o ser productes de la degradació del β -sitosterol.

Una altre classe de compostos que apareixia en abundància en diferents mostres eren els terpens i de la qual se n'han trobat diferents tipus com el lupeol, el cedrol i el friedelin. Els terpens duen a terme diverses funcions en les plantes, participen en la síntesi de vitamines, formació de pigments, ceres i resines i actuen com a antioxidants.

En algunes mostres també s'ha identificat l'àcid hidroabiètic, un tipus d'àcid carboxílic present en les resines de les coníferes i que juntament amb el β -sitosterol pot ser indicador de restes de biomassa cremada (Pancost & Boot, 2004; Simoneit et al., 2004).

Com s'ha descrit, tots aquests compostos trobats a les mostres i que no formaven part de l'objecte d'estudi d'aquest projecte, es troben de forma natural i abundant a les plantes. La seva presència confirma l'existència d'un input terrestre de plantes superiors a les mostres.

6. CONCLUSIONS

6. CONCLUSIONS

6.1 Conclusions de l'estudi

Una vegada finalitzat l'estudi de biomarcadors cuticulars continguts en les mostres de sòls de diferents punts de la Península Ibèrica podem concloure que:

- Els sòls són un recurs útil per a la recerca de biomarcadors cuticulars de plantes superiors. S'ha pogut detectar la presència de diferents tipus de lípids alquilats amb una estructura química característica i que ofereixen una aproximació al tipus de vegetació de la qual provenen i el grau de degradació que han patit. Són per tant una font d'informació directa de la presència o absència de plantes superiors en un ecosistema.
- L'anàlisi estadístic aplicat entre diversos paràmetres d'aquests biomarcadors i diferents variables climàtiques, ha permès obtenir correlacions significatives que posen de manifest la relació entre els lípids alquilats i les característiques del clima d'una zona. Aquestes correlacions s'han manifestat principalment amb la precipitació, motiu pel qual, s'ha pogut comprovar que la longitud mitjana de cadena en alcans, l'índex de preferència de carboni dels àcids alcànics i la relació C_{31}/C_{27} en alcans varien en funció dels règims pluviomètrics de la zona. Aquests resultats, permeten afirmar que els biomarcadors analitzats podrien ser molt útils com a proxies paleoclimàtics de precipitació a la Península Ibèrica.
- El contingut de matèria orgànica total expressat com a pèrdua per ignició (LOI) presenta una correlació directa amb el grau de descomposició de la matèria orgànica del sòl. Aquesta tècnica pot contribuir a comprendre juntament amb les dades obtingudes del CPI les característiques climàtiques que han condicionat la degradació de la matèria orgànica. Per altra banda, les correlacions obtingudes entre aquest paràmetre i variables com la latitud, la temperatura i la precipitació, evidencien que les zones amb una condicions més favorables per a una alta productivitat de matèria orgànica presentaran valors més elevats del LOI.
- No s'han trobat correlacions significatives entre la composició i estructura dels lípids alquilats i les variacions de temperatura en els punts de mostreig.

6.2 Valoració dels objectius

A l'inici d'aquest projecte es van establir uns objectius principals:

Els objectius "Avaluar si els sòls esdevenen una font fiable per a la recerca i quantificació de lípids alquilats" i "Comprovar la viabilitat dels lípids alquilats com a

biomarcadors cuticulars de plantes superiors”, s’han assolit correctament. Els resultats obtinguts de l’anàlisi amb espectrometria de masses permeten afirmar que els sòls són un recurs útil per a l’estudi d’aquests biomarcadors de plantes superiors i la recerca bibliogràfica realitzada per elaborar la base d’aquest projecte ha permès comprovar que els resultats obtinguts concorden perfectament amb la teoria.

L’objectiu “Observar si les relacions existents entre lípids alquilats i variables climàtiques es poden aplicar a la Península Ibèrica”, s’ha assolit satisfactòriament. Els resultats obtinguts concorden amb la bibliografia consultada (referent a altres ubicacions diferents) i permeten afirmar que l’estudi dels lípids alquilats com a font d’informació paleoclimàtica, també es pot aplicar a la Península Ibèrica.

Pel que fa a l’objectiu “Determinar si els lípids alquilats són una font fiable per a la reconstrucció de canvis en la temperatura i precipitació a la Península Ibèrica”, s’ha assolit parcialment. Tal com s’ha descrit, els lípids alquilats presenten variacions significatives en funció de la variabilitat de paràmetres climàtics com la temperatura o la precipitació. En aquest estudi només s’han trobat correlacions significatives amb la precipitació (a través de l’ACL, el CPI o la relació C_{31}/C_{27}) i no s’ha aconseguit trobar cap relació amb la temperatura. Tot i així, si que consideràvem els lípids alquilats proxies útils per a la reconstrucció de la precipitació a la Península Ibèrica.

Finalment, l’objectiu “Observar si el tipus de vegetació que evidencia la senyal dels lípids correspon a la vegetació potencial del punt de mostreig” s’ha assolit parcialment. Per una banda, la informació referent a l’estructura i quantitat de lípids alquilats a les mostres permet donar una aproximació del tipus de vegetació. Per altra banda, en aquest objectiu era fonamental determinar la composició isotòpica de carboni de les mostres. Per problemes tècnics no s’ha pogut realitzar aquesta determinació, que ens hagués donat una idea del tipus de vegetació (C3, C4 o CAM), una aproximació del clima de la zona i hagués servit per observar si existien relacions entre la composició isotòpica i les relacions fitogeogràfiques presents a la Península Ibèrica.

6.3 Valoració del projecte

La realització d’aquest projecte ha estat una experiència molt enriquidora. La sensació de contribuir, encara que sigui de forma ínfima, al projecte TETRACLIM (Tetraether membrane and alkyl lipids in Iberian lakes as proxies for continental reconstruction) que desenvolupa l’ICTA (Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals), ha estat molt gratificant.

L’aproximació al món de la investigació científica ha estat molt positiva i apassionant, en part deguda al gran equip de persones que he conegut i que m’han ajudat en tot moment. He après moltes coses de camps que desconeixia relativament com són la química orgànica i

la instrumentalització de laboratori. Coneixement que sens dubte a millorat la visió global que es demana a un ambientòleg quan ha d'enfrontar-se a un repte com aquest.

6.4 Propostes de millora

Algunes propostes de millora que podrien contribuir a complementar els resultats obtinguts en aquest projecte són:

- Comprovar els resultats obtinguts amb els derivats dels diferents llacs àmbit d'estudi del projecte TETRACLIM, per observar si es manifesten les mateixes correlacions trobades en aquest treball.
- Dur a terme l'anàlisi isotòpic del carboni per millorar el grau de coneixement sobre el tipus de vegetació potencial dels punts de mostreig.
- Augmentar el nombre de punts de mostreig sobre el territori. Com s'ha explicat, la Península Ibèrica és un territori amb una varietat climàtica molt important, on s'hi donen règims de temperatura i precipitació en alguns casos diametralment oposats. Per aquest motiu, per crec que seria necessari augmentar el nombre de punts de mostreig per tal de poder agrupar les mostres en conjunts de característiques climàtiques semblants i poder comparar els resultats obtinguts entre diferents grups.
- Que la ubicació dels punts de mostreig sobre el territori seguis un transsecte específic. Es podrien situar els punts de mostreig de tal manera que formessin transsectes a nivell de latitud o longitud per tal d'obtenir informació referent a la variabilitat associada a aquests paràmetres. També es podrien realitzar transsectes perpendiculars a les línies de costa per observar si apareix algun tipus de influència marítima.

7. BIBLIOGRAFIA

- AEMET. (2011). *Atlas Climático Iberico*. Agencia Estatal de Meteorología.
- Barriendos Vallvé, M. (n.d.). La recerca en climatologia històrica. Un debat necessari per al desenvolupament correcte de l'especialitat a l'àmbit de la Mediterrània Occidental. *Treballs de la Societat Catalana de Geografia*, 10(40), 19-32.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., & Wilhelmi, H. (1998). Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 126(3), 237-260.
- Beck, J. W., Edwards, R. L., Ito, E., Taylor, F. W., Recy, J., Rougerie, F., Joannot, P., et al. (1992). Sea-surface temperature from coral skeletal strontium/calcium ratios. *Science*, 257(5070), 644-647. doi:10.1126/science.257.5070.644
- Bi, X., Sheng, G., Liu, X., Li, C., & Fu, J. (2005). Molecular and carbon and hydrogen isotopic composition of n-alkanes in plant leaf waxes. *Organic Geochemistry*, 36(10), 1405-1417. doi:10.1016/j.orggeochem.2005.06.001
- Brassell, S. C., Eglinton, G., Marlowe, I. T., Pflaumann, U., & Sarnthein, M. (1986). Molecular stratigraphy: a new tool for climatic assessment. *Nature*, 320, 129-133.
- Bray, E. E., & Evans, E. D. (1961). Distribution of normal-paraffins as a clue to recognition of source beds. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 22, 2-15.
- Brincat, D., Yamada, K., Ishiwatari, R., Uemura, H., & Naraoka, H. (2000). Molecular-isotopic stratigraphy of long-chain n-alkanes in Lake Baikal Holocene and glacial age sediments. *Organic Geochemistry*, 31, 287-294.
- Bull, I. D., Van Bergen, P. F., Poulton, P. R., & Evershed, R. P. (1998). Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted Classical Experiments II. *Organic Geochemistry*, 28, 11-26.
- Castañeda, I. S., & Schouten, S. (2011). A review of molecular organic proxies for examining modern and ancient lacustrine environments. *Quaternary Science Reviews*, 30(21-22), 2851-2891. doi:10.1016/j.quascirev.2011.07.009
- Conesa Mor, J. A. (1997). *Tipologia de la vegetació: anàlisi i caracterització*. Edicions de la Universitat de Lleida.
- Cranwell, P. A. (1973). Chain-length distribution of n-alkanes from lake sediments in relation to post-glacial environmental change. *Freshwater Biology*, 3, 259-265.
- Cranwell, P. A. (1981). Diagenesis of free and bound lipids in terrestrial detritus deposited in a lacustrine sediment. *Organic Geochemistry*, 3, 79-89.
- Cuadrat, J. M., & Pita, M. F. (1997). *Climatología* (5ª Edición.). Cátedra.
- Dansgaard, W. (1964). Stable isotopes in precipitation. *Tellus*, XVI, 436 - 468.
- Diefendorf, A. F., Freeman, K. H., Wing, S. L., & Graham, H. V. (2011). Production of n-alkyl lipids in living plants and implications for the geologic past. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75(23), 7472-7485. doi:10.1016/j.gca.2011.09.028
- Dodd, R. S., & Afzal-Rafii, Z. (2000). Habitat-related adaptive properties of plant cuticular lipids. *Evolution*, 54(4), 1438-1444.
- Dodd, R. S., & Poveda, M. M. (2003). Environmental gradients and population divergence contribute to variation in cuticular wax composition in *Juniperus communis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(11), 1257-1270. doi:10.1016/S0305-1978(03)00031-0

- Druffel, E. R. M. (1997). Geochemistry of corals: proxies of past ocean chemistry, ocean circulation, and climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(16), 8354-61.
- Duan, Y., & He, J. (2011). Distribution and isotopic composition of n-alkanes from grass, reed and tree leaves along a latitudinal gradient in China. *Geochemical Journal*, 45, 199-207.
- Eglinton, G., & Hamilton, R. J. (1950). Leaf Epicuticular Waxes. *Science*, 156.
- Eglinton, T. I., & Eglinton, G. (2008). Molecular proxies for paleoclimatology. *Earth and Planetary Science Letters*, 275(1-2), 1-16. doi:10.1016/j.epsl.2008.07.012
- Etheridge, D. M., Pearman, G. I., & de Silva, F. (1988). Atmospheric trace-gas variations as revealed by air trapped in an ice core from law dome, Antarctica. *Annals Of Glaciology*, 10.
- Ficken, K. J., Li, B., Swain, D. L., & Eglinton, G. (2000). An n-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes. *Organic Geochemistry*, 31, 745-749.
- Gagosian, R. B., & Peltzer, E. T. (1986). The importance of atmospheric input of terrestrial organic matter to deep sea sediments. In: Leythaeuser, D., Rullkötter, J. (Eds.). *Pergamon Press Oxford*, 661-669.
- Gale Bateman, H., & Jenkins, T. C. (1997). Method for Extraction and Separation by Solid Phase Extraction of Neutral Lipid , Free Fatty Acids , and Polar Lipid from Mixed Microbial Cultures. *Journal of agricultural and food*, (45), 132-134.
- Heiri, O., Lotter, A. F., & Lemcke, G. (2001). Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. *Journal of paleolimnology*, 25, 101-110.
- Heredia, A. (2003). Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1620(1-3), 1-7. doi:10.1016/S0304-4165(02)00510-X
- Horikawa, K., Murayama, M., Minagawa, M., Kato, Y., & Sagawa, T. (2010). Latitudinal and downcore (0–750 ka) changes in n-alkane chain lengths in the eastern equatorial Pacific. *Quaternary Research*, 73(3), 573-582. doi:10.1016/j.yqres.2010.01.001
- Huguet, C., Hopmans, E. C., Febo-Ayala, W., Thompson, D. H., Sinninghe Damsté, J. S., & Schouten, S. (2006). An improved method to determine the absolute abundance of glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether lipids. *Organic Geochemistry*, 37(9), 1036-1041. doi:10.1016/j.orggeochem.2006.05.008
- Huguet, C., Martrat, B., Grimalt, J. O., Sinninghe Damsté, J. S., & Schouten, S. (2011). Coherent millennial-scale patterns in U 37 k' and TEX 86 H temperature records during the penultimate interglacial-to-glacial cycle in the western Mediterranean. *Paleoceanography*, 26(2). doi:10.1029/2010PA002048
- Jeng, W.-L. (2006). Higher plant n-alkane average chain length as an indicator of petrogenic hydrocarbon contamination in marine sediments. *Marine Chemistry*, 102, 242-251. doi:10.1016/j.marchem.2006.05.001
- Jetter, R., Schäffer, S., & Riederer, M. (2000). Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from *Prunus laurocerasus* L. *Plant, Cell and Environment*, 23, 619-628. doi:10.1046/j.1365-3040.2000.00581.x
- Killops, S. D., & Killops, V. J. (1993). *Introduction to Organic Geochemistry* (Second Edi.).
- Kirkwood, R. C. (1999). Recent developments in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides. *Pesticide Science*, 77(February 1998), 69-77.
- Knutson, D. W., Buddemeier, R. W., & Smith, S. V. (1972). Coral chronometers: seasonal growth bands in reef corals. *Science (New York, N.Y.)*, 177(4045), 270-272. doi:10.1126/science.177.4045.270

- Kolattukduy, P. E. (1966). Biosynthesis of Surface Lipids. *Science*, 159.
- Kolattukduy, P. E. (1970). Biosynthesis of cuticular lipids.
- Kolattukduy, P. E. (1985). Enzymatic penetration of the plant cuticle by fungal pathogens. *Annual Reviews Phytopathology*, 23, 223-250.
- Kunst, L., & Samuels, A. L. (2003). Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Progress in lipid research*, 42(1), 51-80.
- Lang, C., Leuenberger, M., Schwander, J., & Johnsen, S. (1999). 16°C Rapid Temperature Variation in Central Greenland 70,000 Years Ago. *Science*, 286(5441), 934-937. doi:10.1126/science.286.5441.934
- Langway Jr, C. C. (1967). Stratigraphic analysis of a deep ice core from Greenland. *Research Report 77, US Army Corps of Engineers, Cold Regions Research & Engineering Laboratory*.
- Langway Jr, C. C., Clausen, H. B., & Hammer, C. U. (1988). An inter-hemispheric volcanic time-marker in ice cores from greenland and antarctica. *Annals Of Glaciology*, 10.
- Leavitt, S. W., & Long, A. (1991). Seasonal stable-carbon isotope variability in tree rings: possible paleoenvironmental signals. *Chemical Geology*, 87, 59-70.
- Li, L., Qianyu, L., Tian, J., Wang, H., & Wang, P. (n.d.). Low latitude hydro-climatic changes during the Plio-Pleistocene: evidence from high resolution alkane records in the South China Sea. *Quaternary Science Reviews*.
- Liu, K.-biu, Reese, C. A., & Thompson, L. G. (2005). Ice-core pollen record of climatic changes in the central Andes during the last 400 yr. *Quaternary Research*, 64(2), 272-278. doi:10.1016/j.yqres.2005.06.001
- Logan, G. A., Smiley, C. J., & Eglinton, G. (1995). Preservation of fossil leaf waxes in association with their source tissues, Clarkia, northern Idaho, USA. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(4), 751-763. doi:10.1016/0016-7037(94)00362-P
- Luo, P., Peng, P., Lü, H., Zheng, Z., & Wang, X. (2012). Latitudinal variations of CPI values of long-chain n-alkanes in surface soils: Evidence for CPI as a proxy of aridity. *Science China Earth Sciences*, 55(1), 1-13. doi:10.1007/s11430-012-4401-8
- Luque Marín, J. A. (2003). *El Lago de Sanabria: un sensor de las oscilaciones climáticas del Atlántico Norte durante los últimos 6.000 años*. Universitat de Barcelona.
- McDermott, F. (2004). Palaeo-climate reconstruction from stable isotope variations in speleothems: a review. *Quaternary Science Reviews*, 23(7-8), 901-918. doi:10.1016/j.quascirev.2003.06.021
- Meyers, P. A. (1997). Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleolimnologic, and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry*, 27(5), 213-250.
- Meyers, P. A. (2003). Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes. *Organic Geochemistry*, 34(2), 261-289. doi:10.1016/S0146-6380(02)00168-7
- Meyers, P. A., & Ishiwatari, R. (1993). Lacustrine organic geochemistry, an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry*, 20(7), 867-900.
- Miyake, T., Nakazawa, F., Sakugawa, H., Takeuchi, N., Fujita, K., Ohta, K., & Nakawo, M. (2006). Concentrations and source variations of n-alkanes in a 21 m ice core and snow samples at Belukha glacier, Russian Altai mountains. *Annals Of Glaciology*, 43, 142-147.
- Méndez Gutiérrez del Valle, R., & Molinero Hernando, F. (1993). *Geografía de España* (1ª Edición.). Ariel.

- Müller, C., & Riederer, M. (2005). Plant surface properties in chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 31(11), 2621-2651. doi:10.1007/s10886-005-7617-7
- Ninyerola, M., Pons, X., & Roure, J. M. (2005). *Atlas Climàtic Digital de la Península Ibèrica*. (U. A. de Barcelona, Ed.).
- Ortiz, J. E., Torres, T., Delgado, A., Llamas, J. F., Soler, V., Valle, M., Julià, R., et al. (2010). Palaeoenvironmental changes in the Padul Basin (Granada, Spain) over the last 1Ma based on the biomarker content. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 298(3-4), 286-299. doi:10.1016/j.palaeo.2010.10.003
- Otto, A., & Simpson, M. J. (2005). Degradation and Preservation of Vascular Plant-derived Biomarkers in Grassland and Forest Soils from Western Canada. *Biogeochemistry*, 74(3), 377-409. doi:10.1007/s10533-004-5834-8
- Ozenda, P. (1982). Les végétaux dans la biosphère. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 18(4), 362.
- Pancost, R. D., & Boot, C. S. (2004). The palaeoclimatic utility of terrestrial biomarkers in marine sediments. *Marine Chemistry*, 92(1-4), 239-261. doi:10.1016/j.marchem.2004.06.029
- Peters, K. E., Walters, C. C., & Moldowan, J. M. (1993). *The Biomarker Guide* (Second Edi., Vol. 1). Cambridge University Pres.
- Petit, J. R., Jouzel, J., Raynaud, D., Barkov, N. I., Barnola, J. M., Basile, I., Benders, M., et al. (1999). Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature*, 399(3).
- Pollard, M., Beisson, F., Li, Y., & Ohlrogge, J. B. (2008). Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. *Trends in plant science*, 13(5), 236-246. doi:10.1016/j.tplants.2008.03.003
- Poynter, J. G. (1989). Aeolian-derived higher plant lipids in the marine sedimentary records: links with paleoclimate. In: Leinen, M., Sarnthein, M. (Eds.). *Paleoclimatology and Paleometeorology: Modern and Past Patterns of Global Atmospheric Transport*, 435-462.
- Riederer, M., Jeffree, C. E., Stark, R. E., Tian, S., Jetter, R., Kunst, L., & Samuels, A. L. (2006). *Biology of the Plant Cuticle*. (M. Riederer & C. Müller, Eds.) Control.
- Riederer, M., & Schreiber, L. (2001). Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of experimental botany*, 52(363), 2023-2032.
- Rivas-Martínez, S. (1987). *Memoria del mapa de series de vegetación de España*. (ICONA, Ed.).
- Rosell-Melé, A., & McClymont, E. L. (2007). Biomarkers as Paleooceanographic Proxies. *Developments in Marine Geology*, 1, 441-490. doi:10.1016/S1572-5480(07)01016-0
- Sachse, D., Radke, J., & Gleixner, G. (2006). δD values of individual n-alkanes from terrestrial plants along a climatic gradient – Implications for the sedimentary biomarker record. *Organic Geochemistry*, 37(4), 469-483. doi:10.1016/j.orggeochem.2005.12.003
- Saurer, M., Siegenthaler, U., & Schweingruber, F. (1995). The climate-carbon isotope relationship in tree rings and the significance of site conditions. *Tellus*, 47B, 320-330.
- Schefub, E., Ratmeyer, V., W.Stuut, J.-B., Fred Jansen, J. H., & Sinninghe Damsté, J. S. (2003). Carbon isotope analyses of n-alkanes in dust from the lower atmosphere over the central eastern Atlantic. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(10), 1757-1767. doi:10.1016/S0016-7037(02)01414-X
- Schouten, S., Hopmans, E. C., Schefub, E., & Sinninghe Damsté, J. S. (2002). Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids: a new tool for reconstructing ancient sea water temperatures ? *Earth and Planetary Science Letters*, 204, 265-274.

- Severinghaus, J. P., & Brook, E. J. (1999). Abrupt climate change at the end of the last glacial period inferred from trapped air in polar ice. *Science (New York, N.Y.)*, 286(5441), 930-934.
- Severinghaus, J. P., Grachev, A., Luz, B., & Caillon, N. (2003). A method for precise measurement of argon 40/36 and krypton/argon ratios in trapped air in polar ice with applications to past firn thickness and abrupt climate change in Greenland and at Siple Dome, Antarctica. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(3), 325-343.
- Shepherd, T., & Griffiths, D. W. (2006). The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist*, 469-499.
- Sholkovitz, E., & Shen, G. T. (1995). The incorporation of rare earth elements in modern coral. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(13), 2749-2756.
- Simoneit, B. R. T. (1977). Organic matter in eolian dusts over the Atlantic ocean*. *Marine Chemistry*, 5, 443-464.
- Simoneit, B. R. T. (1984). Organic matter of the troposphere-iii. Characterization and sources of petroleum and pyrogenic residues in aerosols over the western United States. *Atmospheric Environment*, 18(1), 51-67.
- Simoneit, B. R. T., Kobayashi, M., Mochida, M., Kawamura, K., Lee, M., Lim, H.-J., Turpin, B. J., et al. (2004). Composition and major sources of organic compounds of aerosol particulate matter sampled during the ACE-Asia campaign. *Journal of Geophysical Research*, 109(D19), 1-22. doi:10.1029/2004JD004598
- Simoneit, B. R. T., & Mazurek, M. A. (1982). Organic Matter of the Troposphere—II. Natural Background of biogenic lipid matter in aerosols over the rural western United States†. *Atmospheric Environment*, 16(9), 2139-2159. doi:10.1016/j.atmosenv.2007.10.056
- Tulloch, A. P. (1967). Chemistry of waxes of higher plants. In Kolattukudy P.E. (ed.). *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes*, 235-287.
- Vogts, A. (2009). *Plant wax alkanes and alkan-1-ols in ocean sediments as indicators of continental climate change, validation of a molecular proxy*.
- Yu, K.-F., Zhao, J.-X., Wei, G.-J., Cheng, X.-R., Chen, T.-G., Felis, T., Wang, P.-X., et al. (2005). $\delta^{18}\text{O}$, Sr/Ca and Mg/Ca records of *Porites lutea* corals from Leizhou Peninsula, northern South China Sea, and their applicability as paleoclimatic indicators. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 218(1-2), 57-73. doi:10.1016/j.palaeo.2004.12.003

8. PRESSUPOST

RECURSOS HUMANS				
Concepte	Quantitat	Unitats	Retribució (€/h)	Subtotal
Remuneració personal				
Sou base tutor. Docència	100,00	hores	€ 60,00	€ 6.000,00
Sou base tècnic. Assessorament	30,00	hores	€ 30,00	€ 900,00
Sou base becari.	580,00	hores	€ 10,00	€ 5.800,00
Desplaçaments				
Desplaçaments UAB	340,00	u.	€ 0,93	€ 314,50
Campanya de recollida				
Lloguer vehicle	1,00	u.	€ 1.800,00	€ 1.800,00
Allotjament	9,00	nits	€ 30,00	€ 270,00
Combustible	315,00	L	€ 1,37	€ 431,24
Dietes	18,00	u.	€ 15,00	€ 270,00
TOTAL RECURSOS HUMANS				€ 15.785,74
RECURSOS MATERIALS				
Concepte	Quantitat	Unitats	Preu unitari	Subtotal
Material de papereria				
Impressió	4,00	u.	€ 35,00	€ 140,00
Enquadrnació	4,00	u.	€ 15,00	€ 60,00
CD's	4,00	u.	€ 0,75	€ 3,00
Bloc paper reciclat DIN A4	1,00	u.	€ 4,75	€ 4,75
Retolador permanent	1,00	u.	€ 2,00	€ 2,00
Llibreta	1,00	u.	€ 3,95	€ 3,95
Material de vidre:				
Tubs d'assaig 13 mm	50,00	u.	€ 0,70	€ 35,00
Tubs d'assaig 16mm	30,00	u.	€ 0,82	€ 24,60
Embut	6,00	u.	€ 19,90	€ 119,40
Provetes	4,00	u.	€ 25,00	€ 100,00
Balons	14,00	u.	€ 33,00	€ 462,00
Xeringues de vidre	3,00	u.	€ 54,00	€ 162,00
Suport columna cromatogràfica	23,00	u.	€ 2,56	€ 58,88
Envasos vidre	10,00	u.	€ 5,50	€ 55,00
Taps vidre esmerilat	10,00	u.	€ 5,79	€ 57,90
Pipetes Pasteur 150mm	150,00	u.	€ 0,05	€ 7,50
Pipetes Pasteur 230mm	100,00	u.	€ 0,06	€ 6,00
Vas de precipitats 100ml	3,00	u.	€ 2,55	€ 7,65
Vials	75,00	u.	€ 0,06	€ 4,73
Material de plàstic:				
Gradeta	3,00	u.	€ 11,00	€ 33,00
Bosses hermètiques	100,00	u.	€ 0,16	€ 15,87
Dissolvents i àcids:				
Diclorometà Merck	3,00	L	€ 41,00	€ 123,00
n-hexà Merck	0,20	L	€ 29,60	€ 5,92
Metanol Merck	1,00	L	€ 20,00	€ 20,00
Acetona Merck	2,00	L	€ 25,64	€ 51,28

Iso-octà Merck	0,10	L	€ 61,76	€ 6,18
Cloroform FLUKA	0,20	L	€ 54,34	€ 10,87
2-propanol Merck	0,10	L	€ 42,50	€ 4,25
Dietilèter Sigma-Aldrich	0,20	L	€ 32,10	€ 6,42
Àcid acètic Sigma-Aldrich	0,10	L	€ 27,70	€ 2,77
Substàncies:				
Aminopropil Sharlab	20,00	g	€ 2,49	€ 49,80
Sulfat de sodi Merck	100,00	g	€ 0,08	€ 7,89
Altres materials:				
Assecador	1,00	u.	€ 23,00	€ 23,00
Safates d'alumini grans	100,00	u.	€ 0,11	€ 10,76
Safates d'alumini petites	69,00	u.	€ 0,06	€ 4,35
Agitador magnètic	12,00	u.	€ 0,90	€ 10,80
Garbell	1,00	u.	€ 24,00	€ 24,00
Taps vials	75,00	u.	€ 0,13	€ 9,95
Cotó	15,00	g	€ 0,05	€ 0,75
Morter (morter + mà)	1,00	u.	€ 34,15	€ 34,15
Espàtula	1,00	u.	€ 2,99	€ 2,99
Pinces	1,00	u.	€ 2,55	€ 2,55
Bol d'alumini	1,00	u.	€ 15,95	€ 15,95
Caixa de guants	2,00	u.	€ 11,00	€ 22,00
Ulleres de protecció	1,00	u.	€ 2,00	€ 2,00
Rollo paper d'alumini 300m	1,00	u.	€ 31,09	€ 31,09
Mascareta	1,00	u.	€ 1,00	€ 1,00
Utilització equip de laboratori				
Nom	Quantitat	Unitats	Anàlisi (€/mostra)	Subtotal
GC-MS	46	mostres	€ 35,00	€ 1.610,00
Nom	Quantitat	Unitats	Cost Equip	Subtotal
Campana d'extracció	40,00	dies	€ 3.500,00	€ 38,36
Balança analítica AND	5,00	dies	€ 970,00	€ 1,33
Balança de precisió	5,00	dies	€ 1.200,00	€ 1,64
Microones CEM MARS-X	3,00	dies	€ 271,60	€ 0,22
Assecador flux de nitrogen	5,00	dies	€ 579,50	€ 0,79
Rotavapor	5,00	dies	€ 375,00	€ 0,51
Centrifuga Hettich	2,00	dies	€ 1.780,00	€ 0,98
Dessecador	3,00	dies	€ 225,00	€ 0,18
Estufa Memmert	3,00	dies	€ 1.632,00	€ 1,34
Mufra Obersal XB-2-115	3,00	dies	€ 1.500,00	€ 1,23
Congelador	60,00	dies	€ 679,00	€ 11,16
Nevera	40,00	dies	€ 321,00	€ 3,52
TOTAL RECURSOS MATERIALS				€ 3.505,37
TOTAL (I.V.A Inclòs)				€ 19.291,10

Taula 8.1: Pressupost aproximat del projecte. Font: Elaboració pròpia.

Nota: el cost d'utilització dels equips s'ha fet en base a 10 anys de vida útil dels aparells.

9. PROGRAMACIÓ

MES	SET'11				OCT'11				NOV'11				DES'11				GEN'12				FEB'12				MAR'12				ABR'12				MAI'12				JUN'12				JUL'12			
Activitat / Setmana	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Contacte Tutor																																												
Reunió definició i característiques projecte																																												
Introducció al laboratori																																												
Aprenentatge tècniques i pràctiques laboratoris																																												
Recollida mostres																																												
Preparació mostres																																												
Fase analítica: etapes																																												
Extracció de la mostra																																												
Fraccionament																																												
Anàlisi CG-MS																																												
Determinació LOI																																												
Anàlisi de dades																																												
Recerca bibliogràfica																																												
Redacció de la memòria																																												
Entrega del projecte																																												
Defensa del projecte																																												

Taula 9.1: Programació del projecte. Font: Elaboració pròpia.

10. ACRÒNIMS

ACL: Average Chain Length
CPI: Carbon Preference Index
DCM: Diclorometà
GC-MS: Cromatògraf de gasos acoblat a espectròmetre de masses
GC: Cromatògraf de gasos
GDGT: Glycerol dialkyl glycerol tetraethers
ICTA: Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals
LERA: Laboratori de l'esfera ambiental
LOI: Loss on ignition
m/z: relació massa/càrrega
MS: Espectròmetre de masses
SST: Sea surface temperature
TETRACLIM: Tetraether membrane and alkyl lipids in Iberan lakes as proxies for continental reconstruction
UCM: Unresolved complex mixture

ANNEX

Taula A1: Característiques dels mètodes d'integració. Pesos moleculars i temps de retenció introduïts als mètodes d'identificació mitjançant software informàtic dels compostos orgànics als cromatogrames:

n-Alcans				
Compost (IUPAC)	Abreviació utilitzada	Fórmula química	Pes Molecular (u.m.a)	Temps de retenció
Tridecà	C13	C ₁₃ H ₂₈	184	11,224
Tetradecà	C14	C ₁₄ H ₃₀	198	13,381
Pentadecà	C15	C ₁₅ H ₃₂	212	15,435
Hexadecà	C16	C ₁₆ H ₃₄	226	17,412
Heptadecà	C17	C ₁₇ H ₃₆	240	19,297
2,6,10,14-Tetrametihexadecà	Phy(Phytane)	C ₂₀ H ₄₂	282	19,394
Octadecà	C18	C ₁₈ H ₃₈	254	21,080
2,6,10,14-Tetrametilpentadecà	Pri (Pristane)	C ₁₉ H ₄₀	268	21,170
Nonadecà	C19	C ₁₉ H ₄₀	268	22,798
Icosà	C20	C ₂₀ H ₄₂	282	24,438
Henicosà	C21	C ₂₁ H ₄₄	296	25,976
Docosà	C22	C ₂₂ H ₄₆	310	27,487
Tricosà	C23	C ₂₃ H ₄₈	324	28,908
Tetracosà	C24	C ₂₄ H ₅₀	338	30,277
Pentacosà	C25	C ₂₅ H ₅₂	352	31,620
Hexacosà	C26	C ₂₆ H ₅₄	366	32,866
Heptacosà	C27	C ₂₇ H ₅₆	380	34,126
Octocosà	C28	C ₂₈ H ₅₈	394	35,315
Nonacosà	C29	C ₂₉ H ₆₀	408	36,464
Tricontà	C30	C ₃₀ H ₆₂	422	37,562
Hentricontà	C31	C ₃₁ H ₆₄	436	38,647
Dotricontà	C32	C ₃₂ H ₆₆	450	39,681
Tritricontà	C33	C ₃₃ H ₆₈	464	40,688
Tetratricontà	C34	C ₃₄ H ₇₀	478	41,696
Pentatricontà	C35	C ₃₅ H ₇₂	492	42,626
Hexatricontà	C36	C ₃₆ H ₇₄	506	43,556
n-Alcanols				
Compost (IUPAC)	Abreviació utilitzada	Fórmula química	Pes Molecular (u.m.a)	Temps de retenció
1-hexadecanol	C16OH	C ₁₆ H ₃₄ O	242	23,715
1-heptadecanol	C17OH	C ₁₇ H ₃₆ O	256	25,265
1-octadecanol	C18OH	C ₁₈ H ₃₈ O	270	26,776
1-nonadecanol	C19OH	C ₁₉ H ₄₀ O	284	28,197
1-eicosanol	C20OH	C ₂₀ H ₄₂ O	298	29,592
1-heneicosanol	C21OH	C ₂₁ H ₄₄ O	312	30,910
1-docosanol	C22OH	C ₂₂ H ₄₆ O	326	32,202
1-tricosanol	C23OH	C ₂₃ H ₄₈ O	340	33,429
1-tetracosanol	C24OH	C ₂₄ H ₅₀ O	354	34,643

1-pentacosanol	C25OH	C ₂₅ H ₅₂ O	368	35,780
1-hexacosanol	C26OH	C ₂₆ H ₅₄ O	382	36,916
1-heptacosanol	C27OH	C ₂₇ H ₅₆ O	396	37,988
1-octacosanol	C28OH	C ₂₈ H ₅₈ O	410	39,048
1-nonacosanol	C29OH	C ₂₉ H ₆₀ O	424	40,107
1-triacontanol	C30OH	C ₃₀ H ₆₂ O	438	41,050
1-henetriacontanol	C31OH	C ₃₁ H ₆₄ O	452	41,993
1-dotriacontanol	C32OH	C ₃₂ H ₆₆ O	466	42,910
1-tritriacontanol	C33OH	C ₃₃ H ₆₈ O	480	43,814
1-tettratriacontanol	C34OH	C ₃₄ H ₇₀ O	494	44,809
n-Alcanoic àcids				
Compost (IUPAC)	Abreviació utilitzada	Fórmula química	Pes Molecular (u.m.a)	Temps de retenció
Àcid dodecanoic	C12COOH	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	18,329
Àcid tetradecanoic	C14COOH	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	21,842
Àcid pentadecanoic	C15COOH	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	23,483
Àcid cis-9-hexadecaenoic	À. palmitelaidic	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	24,878
Àcid hexadecanoic	Àcid palmític	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	25,059
Àcid heptadecanoic	C17COOH	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	26,750
Àcid 9,12-octadecadienoic	C18COOH:2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	27,513
Àcid trans-9-octadecaenoic	C18COOH:1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	27,603
Àcid cis-9-octadecaenoic	Àcid oleic	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	27,707
Àcid octadecanoic	Àcid esteàric	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	28,017
Àcid nonadecanoic	C19COOH	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	29,412
Àcid icosanoic	Àcid araquídic	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	30,742
Àcid henicosanoic	C21COOH	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	32,034
Àcid docosanoic	C22COOH	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	33,300
Àcid tricosanoic	C23COOH	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354	34,488
Àcid tetracosanoic	C24COOH	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368	35,663
Àcid pentacosanoic	C25COOH	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382	36,774
Àcid hexacosanoic	C26COOH	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	396	37,872
Àcid heptacosanoic	C27COOH	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	410	38,944
Àcid octocosanoic	C28COOH	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	424	39,965
Àcid nonacosanoic	C29COOH	C ₂₉ H ₅₈ O ₂	438	40,959
Àcid tricontanoic	C30COOH	C ₃₀ H ₆₀ O ₂	452	41,915

Taula A2: Quantitat de mostra pesada per a l'extracció.

Mostra	Pes (g)
AM	10,11
CA	10,40
CAR	11,00
CAR-M	10,10
CAY	10,08
CER	10,07
CER-B	10,43
COV	10,02
E	10,21
ER	10,05
EST	10,12
MA	10,65
MI	10,22
MO	10,01
OL	10,05
RE	10,22
SAL	10,02
SAN	10,01
SAN-C	10,02
TA	10,01
TO	10,22
ZA	10,11
ZO	10,01

MOSTRES													
COMPOST	AM	CA	CAR	CAR-M	CAY	CER	CER-B	COV	E	ER	EST	MA	
C16	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C17	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Phytane	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C18	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Pristane	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C19	0,0	0,0	30,8	13,0	0,0	80,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C20	29,6	31,8	28,3	23,6	63,6	98,1	0,0	435,8	40,1	0,0	0,0	22,1	
C21	186,3	61,2	103,6	70,7	283,8	1471,3	51,1	1546,7	71,5	185,7	57,6	49,6	
C22	117,4	102,2	108,2	86,9	186,5	500,3	75,3	1208,5	118,1	210,2	102,4	100,6	
C23	359,7	176,7	324,1	160,5	446,9	1271,5	125,6	2453,8	237,9	428,5	165,5	155,9	
C24	192,5	164,4	197,4	128,3	285,4	549,4	107,0	1735,7	176,1	331,8	171,5	157,1	
C25	377,5	300,3	979,9	190,8	1141,1	1618,0	170,2	3438,9	401,8	957,6	178,6	180,5	
C26	152,8	143,8	278,9	120,6	416,2	591,3	84,9	1570,7	223,2	440,6	119,2	100,4	
C27	797,6	602,2	7823,9	768,5	6816,4	2947,4	529,0	8920,1	1456,8	1978,4	131,1	284,5	
C28	369,1	267,2	521,3	300,5	1618,8	474,4	155,0	3567,6	731,9	693,9	68,3	91,9	
C29	4688,3	1768,4	11159,8	4488,7	34388,5	4211,3	2784,2	35615,3	11635,7	4736,0	207,3	618,2	
C30	720,0	153,4	201,8	283,2	1912,6	309,8	159,9	4172,0	805,1	871,8	43,1	75,0	
C31	10029,4	2561,0	1771,9	4539,5	52002,3	10086,4	1548,1	77176,1	11480,8	16349,0	488,9	729,9	
C32	1370,4	141,3	113,7	195,1	1804,7	346,6	110,7	3633,8	562,3	872,4	0,0	108,9	
C33	11148,9	903,3	453,9	1135,4	20917,1	3440,0	555,7	24737,1	3184,2	8100,5	421,3	572,7	
C34	771,6	0,0	0,0	0,0	0,0	1318,0	32,9	0,0	254,3	0,0	32,5	63,0	
C35	2250,0	168,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3884,3	755,6	889,5	74,1	121,9	
TOTAL	33560,8	7545,4	24097,5	12505,2	122284,0	29314,6	6489,6	174096,2	32135,4	37045,8	2261,4	3432,2	

Taula A3: Concentracions dels alcanes a les diferents mostres (ng/g mostra).

MOSTRES											
COMPOST	MI	MO	OL	RE	SAL	SAN	SAN-C	TA	TO	ZA	ZO
C16	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C17	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Phytane	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C18	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Pristane	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C19	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C20	24,9	51,9	23,2	43,4	25,3	39,6	49,8	46,0	40,2	24,3	1,1
C21	57,9	132,8	53,2	117,6	59,0	79,9	120,4	83,1	85,5	51,8	129,1
C22	87,7	146,3	88,8	156,6	89,8	105,2	150,7	133,3	135,0	97,0	101,8
C23	178,9	308,1	135,8	283,9	166,5	256,6	307,3	214,0	233,8	157,6	323,0
C24	160,2	277,1	130,7	265,8	136,4	173,7	242,6	177,5	178,4	150,4	162,7
C25	327,0	1272,3	189,6	431,8	312,7	510,3	467,6	293,6	331,7	220,1	300,9
C26	128,0	404,0	109,3	247,5	130,4	221,7	276,6	176,6	214,9	110,5	4,8
C27	832,4	4466,6	688,1	1039,7	739,8	2212,8	1641,1	744,2	1257,1	448,2	503,9
C28	195,2	1019,7	241,2	457,9	197,0	415,7	551,8	349,7	656,3	126,8	161,5
C29	2832,7	14542,2	4010,2	4203,9	2937,0	4830,4	4220,2	2315,5	10082,2	2277,6	2586,4
C30	197,6	749,7	194,3	469,1	211,0	211,0	249,9	212,8	650,3	96,8	388,3
C31	2536,0	7441,6	2009,8	5382,1	2459,5	1916,5	3054,9	2243,4	5527,9	1205,1	5114,8
C32	0,0	302,1	75,4	587,6	185,8	83,9	151,0	218,1	376,3	66,2	663,7
C33	924,1	1166,8	256,0	5813,3	1111,3	488,4	1081,6	1249,1	2330,9	449,8	3653,3
C34	0,0	0,0	0,0	238,3	0,0	284,3	0,0	0,0	0,0	0,0	324,5
C35	173,1	0,0	0,0	489,9	248,5	149,3	0,0	0,0	0,0	85,8	1097,1
TOTAL	8655,7	32281,3	8205,6	20228,4	9010,0	11979,2	12565,5	8456,9	22100,4	5567,9	15516,7

Taula A3: Concentracions dels alcans a les diferents mostres (ng/g mostra). (continuació)

MOSTRES													
COMPOST	AM	CA	CAR	CAR-M	CAY	CER	CER-B	COV	E	ER	EST	MA	
C16OH	43,0	19,4	31,6	30,2	27,0	222,0	13,4	52,2	18,1	34,3	9,8	0,0	
C17OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C18OH	48,0	23,4	35,3	54,6	242,7	180,7	20,5	26,9	58,6	37,5	10,1	14,5	
C19OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C20OH	188,7	139,1	256,0	258,8	1420,3	0,0	142,5	258,3	409,6	525,4	0,0	44,6	
C21OH	0,0	31,0	106,2	54,4	267,1	0,0	34,0	61,9	81,8	87,4	0,0	8,2	
C22OH	845,8	382,3	1816,5	1084,3	6981,2	3228,9	707,9	1122,9	1252,2	1428,0	217,0	131,5	
C23OH	84,7	81,0	225,4	96,0	448,0	0,0	82,1	117,3	129,4	176,4	15,1	16,7	
C24OH	2314,8	1428,3	9971,4	4141,6	19327,8	13613,4	2675,3	2496,4	4967,7	2610,5	327,1	330,6	
C25OH	220,8	235,7	764,0	293,1	1124,5	0,0	194,8	516,5	347,2	482,7	32,3	51,8	
C26OH	2116,1	9693,8	20392,1	6053,1	34146,6	14125,6	2998,2	44743,2	8150,3	14157,1	952,4	748,8	
C27OH	236,0	172,8	913,9	383,0	1164,2	777,4	135,2	505,9	284,3	461,8	702,3	54,0	
C28OH	1544,8	2682,8	11147,5	3911,4	18125,3	8346,4	935,5	8715,3	3479,4	5377,9	366,1	595,4	
C29OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C30OH	0,0	1779,8	10227,4	4661,7	19415,6	3968,6	2102,3	5936,3	6016,4	3429,8	389,2	322,7	
C31OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C32OH	968,4	537,5	3502,8	2165,0	0,0	1302,2	0,0	1758,1	0,0	1924,4	130,4	125,3	
C33OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
C34OH	84,4	91,8	335,2	0,0	441,2	0,0	67,0	264,4	241,4	201,5	0,0	0,0	
TOTAL	8695,5	17298,9	59725,3	23187,3	103131,5	45765,1	10108,7	66575,6	25436,4	30934,8	3151,8	2444,0	

Taula A4: Concentracions dels alcanols a les diferents mostres (ng/g mostra).

MOSTRES												
COMPOST	MI	MO	OL	RE	SAL	SAN	SAN-C	TA	TO	ZA	ZO	
C16OH	16,7	98,8	20,8	0,0	12,8	17,7	26,7	46,8	32,9	25,5	19,9	
C17OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1131,7	1242,3	0,0	0,0	0,0	
C18OH	29,2	847,9	20,9	0,0	26,0	181,0	162,8	130,3	148,2	22,0	13,7	
C19OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	727,8	0,0	0,0	0,0	0,0	
C20OH	185,7	2077,9	110,0	525,4	166,2	612,5	939,5	707,1	863,1	93,0	17,4	
C21OH	36,6	299,4	17,3	0,0	29,1	101,3	170,8	107,0	136,8	10,3	11,0	
C22OH	709,2	9695,5	596,6	1158,5	440,5	2065,8	2129,4	2818,0	3421,2	199,7	157,4	
C23OH	72,1	825,8	60,7	0,0	44,0	278,6	289,8	134,3	265,5	28,6	29,5	
C24OH	4301,9	52261,0	2047,2	1763,3	1407,5	23353,2	14438,8	2380,9	11773,8	594,0	858,6	
C25OH	134,9	3399,5	134,9	0,0	166,7	829,3	717,5	377,7	529,3	116,5	156,5	
C26OH	6536,8	11313,2	2785,3	1651,8	5820,6	9048,6	7242,7	6511,3	7682,7	3334,7	1609,3	
C27OH	114,0	3705,8	137,1	0,0	206,5	981,1	716,3	334,7	419,1	159,5	127,0	
C28OH	1334,1	7221,1	848,9	1704,3	4303,6	3876,1	2754,7	4774,8	5197,8	2857,6	1282,8	
C29OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1306,5	0,0	0,0	0,0	0,0	
C30OH	1443,9	18573,2	975,8	0,0	4750,7	6079,0	5121,5	0,0	0,0	777,5	0,0	
C31OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	609,2	0,0	0,0	0,0	0,0	
C32OH	3075,8	13219,1	460,6	0,0	671,6	2558,0	1240,9	2174,6	0,0	557,8	0,0	
C33OH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	413,5	0,0	0,0	0,0	0,0	
C34OH	62,9	482,7	113,1	0,0	103,1	90,5	130,5	272,9	113,4	134,0	97,3	
TOTAL	18054,0	124020,7	8329,0	6803,3	18148,9	50072,6	40270,9	22012,8	30583,6	8910,8	4380,5	

Taula A4: Concentracions dels alcanols a les diferents mostres (ng/g mostra). (continuació)

MOSTRES												
COMPOST	AM	CA	CAR	CAR-M	CAY	CER	CER-B	COV	E	ER	EST	MA
C12COOH	195,2	31,5	79,2	144,9	578,7	270,6	61,3	147,1	71,4	130,7	29,2	30,4
C14COOH	594,5	102,8	168,2	393,7	1085,8	671,0	172,0	321,5	176,1	162,4	49,3	54,6
C15COOH	202,9	42,9	80,7	242,5	820,2	177,5	59,0	366,2	98,7	92,6	17,7	18,9
À. palmitelaic	1733,5	787,7	63,8	383,5	80,9	53,2	294,7	221,3	949,0	54,4	55,1	107,4
Àcid palmític	23635,9	2646,4	3009,9	10842,0	16954,6	4522,3	3012,7	5923,2	5137,4	3092,2	1055,8	1473,9
C17COOH	542,4	59,7	120,9	305,3	1153,2	215,3	58,6	194,3	157,3	23,3	30,6	34,9
C18COOH:2	1071,3	251,1	158,9	671,0	3883,7	936,3	80,7	346,7	1568,7	119,2	365,1	88,2
C18COOH:1	3520,8	472,2	381,4	1657,4	3811,4	1379,4	441,0	1009,3	1877,8	498,3	581,0	499,5
Àcid oleic	466,5	85,4	120,7	226,2	291,6	554,4	78,5	308,2	273,9	86,1	38,7	38,3
Àcid estearic	15697,8	1366,0	1849,7	6686,2	81435,1	3114,6	1538,7	3202,6	4510,3	1906,8	829,1	997,4
C19COOH	2533,2	0,0	1878,3	791,2	4492,0	0,0	4642,6	3982,0	1830,4	22675,5	0,0	0,0
Àcid araquídic	55363,6	8002,4	24180,4	11191,7	43378,7	91446,3	122781,1	49225,7	41214,1	185173,4	11114,9	4218,7
C21COOH	12811,5	1563,7	15803,4	5266,8	30760,9	19501,4	34302,5	32075,5	11540,8	90017,2	483,0	645,0
C22COOH	80529,4	8706,6	102071,6	32241,1	192056,7	237838,1	284155,9	147747,9	84862,3	552554,7	13902,1	8214,9
C23COOH	18355,2	2375,2	53506,8	12248,0	65209,4	57481,6	71834,8	92072,6	22551,6	263779,8	2505,1	2499,5
C24COOH	54954,1	7317,2	105016,5	28790,6	114805,3	223012,7	196089,3	151583,6	48074,0	638604,6	7891,8	6945,2
C25COOH	3793,8	0,0	11196,6	2437,0	19370,1	15268,6	8028,6	22528,6	3865,3	88842,6	424,1	0,0
C26COOH	12406,1	2390,5	35241,3	5532,8	44985,4	36139,5	22001,4	59667,3	15475,4	218796,2	1458,5	1574,3
C27COOH	652,5	0,0	2456,6	589,2	7026,3	0,0	0,0	0,0	0,0	30924,8	0,0	0,0
C28COOH	4229,8	0,0	20638,7	3474,1	26325,1	0,0	0,0	22348,1	5743,7	106777,9	0,0	767,0
C29COOH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C30COOH	2794,6	0,0	0,0	2176,4	17082,8	0,0	0,0	10020,5	5436,4	40079,6	0,0	0,0
TOTAL	296084,3	36201,2	378023,6	126291,8	675587,9	692583,0	749633,3	603292,1	255414,5	2244392,2	40831,1	28208,1

Taula A5: Concentracions dels àcids alcanoics a les diferents mostres (ng/g mostra).

MOSTRES											
COMPOST	MI	MO	OL	RE	SAL	SAN	SAN-C	TA	TO	ZA	ZO
C12COOH	61,4	76,2	41,7	59,9	61,0	46,9	30,1	59,8	107,7	29,7	43,9
C14COOH	216,1	149,0	105,6	124,8	202,9	86,6	96,5	141,2	240,3	79,6	109,6
C15COOH	71,1	154,4	32,7	55,1	70,7	40,2	45,4	84,3	166,8	32,7	21,0
À. palmitelàidic	257,6	72,5	64,2	81,4	428,9	31,1	27,7	201,0	1586,4	132,7	18,9
Àcid palmític	5857,9	3228,8	2221,1	4299,3	4161,0	1573,3	1471,2	3162,5	6221,1	2269,1	2251,8
C17COOH	97,9	235,2	44,1	131,0	73,6	59,7	50,3	126,6	180,1	57,5	48,7
C18COOH:2	212,1	635,1	123,1	124,5	139,1	81,0	157,6	454,0	754,8	49,4	48,8
C18COOH:1	994,0	741,4	378,4	498,5	646,9	289,7	326,1	609,3	1395,4	248,6	269,3
Àcid oleic	94,7	104,9	49,4	56,1	97,6	43,4	56,1	254,8	206,7	46,3	32,0
Àcid estearic	2261,9	2302,8	1426,6	2185,5	1538,8	1197,3	1424,7	2742,7	3880,7	1816,5	1665,8
C19COOH	6493,5	5089,9	2964,5	0,0	881,7	1055,4	841,3	4021,8	16982,0	6928,0	4728,5
Àcid araquídic	122955,5	42838,6	47392,9	31183,1	16644,5	15383,3	5780,9	62081,7	469165,5	189268,5	127487,9
C21COOH	26409,5	28468,2	16153,2	5621,6	6923,6	10707,6	3490,2	17766,4	199577,3	68487,9	31083,7
C22COOH	218672,0	132652,5	147351,5	63281,1	42091,3	68214,0	12234,5	125351,0	1244780,8	346039,7	135304,9
C23COOH	55763,3	44239,2	41422,2	12211,2	18225,1	23408,2	3418,5	32204,9	391596,5	118967,6	46910,7
C24COOH	154018,7	69861,0	85885,5	64767,9	30636,7	44637,1	5436,8	78505,7	931839,0	196864,7	104011,9
C25COOH	6247,3	12809,7	5284,5	2922,1	3362,3	6853,9	440,8	7402,5	75140,6	12291,8	5335,3
C26COOH	26711,2	37299,5	13992,3	33748,2	8230,8	17479,5	1210,8	27712,0	219349,6	61701,6	18420,3
C27COOH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13274,8	0,0	0,0
C28COOH	0,0	18278,7	10657,6	14004,5	0,0	13840,8	0,0	11246,0	94946,9	21066,6	7168,0
C29COOH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C30COOH	0,0	0,0	8020,4	4967,5	1424,9	0,0	0,0	4242,3	97542,7	4331,0	1928,6
TOTAL	627395,9	399237,9	383611,5	240323,5	135841,4	205029,0	36539,6	378370,7	3768935,8	1030709,5	486889,9

Taula A5: Concentracions dels àcids alcanoics a les diferents mostres (ng/g mostra). (continuació)

Mostra	Pes Total (3 rèpliques)	Pes Homogeneïtzat	Pes vegetals	Pes pedres	Pes terra fina	Vegetals (%)	Pedres (%)	Terra fina (%)
AM	3448	1919	17,0	1028,3	874,0	0,89	53,57	45,54
CA	3456	2304	8,7	93,5	2201,4	0,38	4,06	95,57
CAR	2202	573	15,8	0,0	557,3	2,76	0,00	97,24
CAR-M	3187	1178	5,6	254,1	918,5	0,47	21,56	77,96
CAY	2166	2052	43,3	790,3	1218,3	2,11	38,51	59,38
CER	2019	585	64,4	77,9	443,0	10,99	13,31	75,70
CER-B	4210	1828	2,5	708,5	1116,8	0,14	38,77	61,10
COV	2831	631	7,7	14,2	609,0	1,22	2,25	96,53
E	4399	2306	9,9	1440,6	855,1	0,43	62,48	37,09
ER	2511	631	7,4	14,2	609,0	1,17	2,25	96,58
EST	4515	943	0,6	2,9	939,9	0,06	0,31	99,63
MA	5226	2204	0,5	1221,5	981,7	0,02	55,43	44,55
MI	4891	3333	15,6	2298,9	1018,5	0,47	68,97	30,56
MO	2658	606	10,4	4,5	590,7	1,72	0,75	97,53
OL	4112	1284	3,1	216,5	1064,9	0,24	16,85	82,91
RE	3041	2963	8,1	472,4	2482,9	0,27	15,94	83,79
SAL	3564	1170	2,5	175,8	991,8	0,21	15,02	84,77
SAN	2680	1009	26,7	203,4	779,3	2,64	20,15	77,21
SAN-C	2656	814	8,9	69,4	735,8	1,09	8,52	90,38
TA	3479	759	6,3	97,3	655,7	0,82	12,81	86,36
TO	3528	1126	13,4	345,5	767,1	1,19	30,68	68,13
ZA	3632	875	0,8	56,9	816,8	0,09	6,50	93,40
ZO	4100	1135	0,2	208,6	926,6	0,02	18,38	81,61

Taula A6: Quantitats de les mostres en l'etapa de preparació (g).

Taula A7: Pesos enregistrats en les diferents etapes de determinació del LOI (g):

	Pes safata (g)	Pes fresc (g)	Pes sec (g)	Pes cendres (g)	LOI (%)
Rèplica 1					
AM	1,1561	1,0199	2,1355	2,0581	3,62
CA	1,1743	1,0078	2,1489	2,0907	2,71
CAR	1,1679	1,0103	1,5956	1,4500	9,13
CAR-M	1,1554	1,0129	2,1217	2,0530	3,24
CAY	1,1645	1,0157	2,0302	1,8112	10,79
CER	1,1643	1,0090	2,1026	1,7396	17,26
CER-B	1,1737	1,0157	2,1745	2,1241	2,32
COV	1,1616	1,0089	1,8361	1,7180	6,43
E	1,1645	1,0078	2,1282	2,0097	5,57
ER	1,1623	1,0127	1,8951	1,7761	6,28
EST	1,1582	1,0153	2,1319	2,0952	1,72
MA	1,1653	1,0043	2,1574	2,1268	1,42
MI	1,1772	1,0194	2,1883	2,1290	2,71
MO	1,1711	1,0013	2,0591	1,9078	7,35
OL	1,1642	1,0151	2,1640	2,1085	2,56
RE	1,1644	1,0090	2,0620	2,0043	2,80
SAL	1,1692	1,0002	2,1542	2,0917	2,90
SAN	1,1631	1,0082	2,0603	1,9467	5,51
SAN-C	1,1801	1,0102	2,1597	2,0564	4,78
TA	1,1647	1,0116	2,1392	2,0153	5,79
TO	1,1670	1,0035	2,0823	1,9230	7,65
ZA	1,1609	1,0127	2,1341	2,0759	2,73
ZO	1,1692	1,0238	2,1598	2,1144	2,10
Rèplica 2					
AM	1,167	1,0005	2,1236	2,0439	3,75
CA	1,1673	1,0004	2,1305	2,0779	2,47
CAR	1,162	1,006	1,5874	1,4454	8,95
CAR-M	1,1592	1,0079	2,1226	2,0482	3,51
CAY	1,1735	1,0098	2,0374	1,8297	10,19
CER	1,17	1,0032	2,0968	1,6944	19,19
CER-B	1,1503	1,0067	2,1462	2,0978	2,26
COV	1,1741	1,0054	1,8362	1,7273	5,93
E	1,1682	1,0041	2,1265	1,9996	5,97
ER	1,1639	1,0025	1,8885	1,7714	6,20
EST	1,1656	1,0049	2,1212	2,0906	1,44
MA	1,1636	1,003	2,1529	2,1258	1,26
MI	1,1594	1,0028	2,1534	2,094	2,76
MO	1,1763	1,0092	2,0595	1,9017	7,66
OL	1,161	1,0021	2,1454	2,0938	2,41
RE	1,169	1,0021	2,0398	2,0044	1,74

SAL	1,1605	1,0048	2,1483	2,0755	3,39
SAN	1,1547	1,005	2,0464	1,9214	6,11
SAN-C	1,1632	1,0077	2,1415	2,0402	4,73
TA	1,1721	1,0082	2,1437	2,0153	5,99
TO	1,1643	1	2,0693	1,901	8,13
ZA	1,1649	1,0036	2,1199	2,0688	2,41
ZO	1,1622	1,0082	2,1344	2,0998	1,62
Rèplica 3					
AM	1,1809	1	2,1409	2,0588	3,83
CA	1,1645	1,0033	2,1301	2,0829	2,22
CAR	1,17	1,003	1,5907	1,4495	8,88
CAR-M	1,1554	1,0063	2,1178	2,0308	4,11
CAY	1,1748	1,0003	2,027	1,825	9,97
CER	1,1647	1,0051	2,089	1,7042	18,42
CER-B	1,168	1,007	2,1663	2,1136	2,43
COV	1,1566	1,002	1,8482	1,7266	6,58
E	1,165	1,0051	2,1221	1,996	5,94
ER	1,1615	1,0018	1,8791	1,7669	5,97
EST	1,17	1,0037	2,1261	2,097	1,37
MA	1,1741	1,0025	2,16	2,1308	1,35
MI	1,1654	1,0061	2,1595	2,101	2,71
MO	1,1635	1,0033	2,0391	1,8796	7,82
OL	1,1678	1,0036	2,1524	2,0938	2,72
RE	1,1618	1,0025	2,0291	1,9905	1,90
SAL	1,1589	1,0001	2,146	2,0818	2,99
SAN	1,1782	1,0075	2,0698	1,9383	6,35
SAN-C	1,1631	1,0012	2,1352	2,0414	4,39
TA	1,1651	1,0071	2,1381	2,0201	5,52
TO	1,1652	1,0026	2,0754	1,9184	7,56
ZA	1,1657	1,0007	2,1205	2,0655	2,59
ZO	1,1714	1,0097	2,1406	2,1039	1,71

Ta	Latitud	Precipitació	T.mit	LOI	CPI Alcans	CPI Alcanols	CPI Àc. alcanòics	ACL Alcans	ACL Alcanols	ACL Àc. alcanòics	Relació C ₃₁ /C ₂₇	Vegetació	Zona Fitogeogràfica
Latitud	1	0,329	-0,683**	0,509*	0,343	0,235	-0,411	0,019	0,167	0,413	0,075	0,128	-0,722**
Precipitació	0,329	1	-0,534**	0,591**	0,288	0,21	-0,688**	-0,496*	-0,132	0,423	-0,600*	-0,185	-0,677**
Tmitjana	-0,683**	-0,534**	1	-0,648**	-0,103	-0,111	0,346	0,292	0,07	-0,406	0,248	0,101	0,787**
LOI	0,509*	0,591**	-0,648**	1	0,538**	0,354	-0,287	-0,249	-0,135	0,452	-0,004	-0,285	-0,800**
CPI Alcans	0,343	0,288	-0,103	0,538**	1	0,506	-0,313	-0,225	0,347	0,341	0,087	-0,171	-0,381
CPI Alcanols	0,235	0,21	-0,111	0,354	0,506	1	-0,247	-0,092	0,473*	0,191	0,113	0,157	-0,244
CPI Àc. alcanòics	-0,411	-0,688**	0,346	-0,287	-0,313	-0,247	1	0,317	-0,149	-0,342	0,117	0,021	0,219
ACL Alcans	0,019	-0,496*	0,292	-0,249	-0,225	-0,092	0,317	1	0,01	-0,238	0,860**	0,35	0,152
ACL Alcanols	0,167	-0,132	0,07	-0,135	0,347	0,473*	-0,149	0,01	1	-0,003	-0,044	0,394	0,062
ACL Àc. alcanòics	0,413	0,423	-0,406	0,452	0,341	0,191	-0,342	-0,238	-0,003	1	-0,167	0,207	-0,379
Relació C ₃₁ /C ₂₇	0,075	-0,600*	0,248	-0,004	0,087	0,113	0,117	0,860**	-0,044	-0,167	1	0,128	-0,034
Vegetació	0,128	-0,185	0,101	-0,285	-0,171	0,157	0,021	0,35	0,394	0,207	0,128	1	0,243
Zona Fitogeogràfica	-0,722**	-0,677**	0,787**	-0,800**	-0,381	-0,244	0,219	0,152	0,062	-0,379	-0,034	0,243	1

Taula A8: Anàlisi estadístic. Càlcul dels coeficients de correlació de Spearman entre les diferents variables. **La correlació és significativa a nivell 0,01 (bilateral). *La correlació es significativa a nivell 0,05 (bilateral).

